

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN
TRƯỜNG CAO ĐẲNG LƯƠNG THỰC – THỰC PHẨM

GIÁO TRÌNH

MÔ ĐUN: KIỂM NGHIỆM NƯỚC DÙNG TRONG THỰC PHẨM
NGHỀ: KIỂM NGHIỆM CHẤT LƯỢNG LƯƠNG THỰC, THỰC PHẨM
TRÌNH ĐỘ: CAO ĐẲNG

(Ban hành theo Quyết định số 761/QĐ-TCĐLTTP-ĐT ngày 17 tháng 8 năm 2017 của Hiệu trưởng trường Cao đẳng Lương thực – Thực phẩm)

Đà Nẵng, năm 2017

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

Tài liệu này thuộc loại sách giáo trình nên các nguồn thông tin có thể được phép dùng nguyên bản hoặc trích dùng cho các mục đích về đào tạo và tham khảo.

Mọi mục đích khác mang tính lệch lạc hoặc sử dụng với mục đích kinh doanh thiếu lành mạnh sẽ bị nghiêm cấm.

LỜI GIỚI THIỆU

Nước là yếu tố rất quan trọng trong đời sống con người, nước được cung cấp cho mọi lĩnh vực của đời sống và đóng tầm quan trọng công nghệ sản xuất thực phẩm. Chất lượng nước ảnh hưởng đến tất cả các quá trình sản xuất, an toàn thực phẩm cũng như chất lượng thực phẩm.

Công tác phân tích chỉ tiêu chất lượng đặc trưng của nước là những biện pháp về mặt khoa học kỹ thuật để nhằm xác định một số chỉ tiêu chất lượng đặc trưng của nước. Dựa vào các tiêu chuẩn đã được ban hành, tiến hành phân tích các chỉ tiêu đặc trưng của nước nhằm mục đích đảm bảo vệ sinh về nước dùng trong sản xuất, chế biến thực phẩm. Từ đó nâng cao chất lượng sản phẩm và an toàn cho người tiêu dùng.

Nội dung tài liệu này được biên soạn trên cơ sở giáo trình, bài giảng dùng giảng dạy cho học sinh, sinh viên trình độ cao đẳng và trung cấp thuộc chuyên ngành kiểm tra chất lượng lương thực, thực phẩm; kết hợp với những kinh nghiệm có được trong đào tạo, đồng thời cập nhật những tiến bộ của khoa học kỹ thuật qua nghiên cứu tài liệu và trải nghiệm thực tế về kiểm nghiệm nước dùng trong thực phẩm.

Giáo trình mô đun “Kiểm nghiệm nước dùng trong thực phẩm” được phân bổ thời gian giảng dạy là 76 giờ, gồm có các bài về lấy mẫu, phân tích các chỉ tiêu cảm quan, lý hóa và vi sinh. Đây là một trong những mô đun chuyên môn của nghề Kiểm nghiệm chất lượng lương thực thực phẩm.

Để hoàn thiện giáo trình này tôi đã nhận được sự chỉ đạo, hướng dẫn của khoa và tổ bộ môn, ý kiến đóng góp của các thầy cô chuyên môn, Hội đồng khoa học và Đào tạo Trường Cao đẳng Lương thực - Thực phẩm. Tôi xin được gửi lời cảm ơn đến tất cả các đơn vị, cá nhân đã tạo điều kiện thuận lợi để hoàn thành giáo trình này.

Trong quá trình biên soạn chắc chắn không tránh khỏi những sai sót, tôi mong nhận được nhiều ý kiến đóng góp của các đơn vị, chuyên gia và các đồng nghiệp để giáo trình hoàn thiện hơn.

Xin chân thành cảm ơn!

Đà Nẵng, ngày 1 tháng 8 năm 2018

Tham gia biên soạn:

1. Chủ biên: Ths.Ngô Thị Song
2. Ths.Hồ Thị Tuyết Mai

MỤC LỤC

LỜI GIỚI THIỆU	1
Bài 1. LẤY MẪU VÀ GIỚI THIỆU VỀ CÁC CHỈ TIÊU CHẤT LƯỢNG CỦA NƯỚC DÙNG TRONG THỰC PHẨM	6
1. Lấy mẫu	6
1.1. Lập chương trình lấy mẫu.....	6
1.2. Chuẩn bị và kiểm tra thiết bị lấy mẫu.....	8
1.3. Tiến hành lấy mẫu	10
1.4. Bảo quản, vận chuyển và lưu mẫu.....	14
1.5. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ chứa mẫu, vật lấy mẫu.....	15
2. Các chỉ tiêu chất lượng của nước dùng trong thực phẩm	16
2.1. Chỉ tiêu cảm quan.....	16
2.2. Chỉ tiêu lý hóa	17
2.3. Chỉ tiêu vi sinh.....	17
3. Thực hành lấy mẫu nước dùng trong thực phẩm.....	17
Bài 2. ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG CẢM QUAN NƯỚC DÙNG TRONG THỰC PHẨM.....	21
1. Đánh giá màu sắc.....	21
2. Đánh giá độ đục.....	23
3. Đánh giá mùi	25
4. Xác định vị	27
5. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ cảm quan.....	28
6. Thực hành đánh giá chất lượng cảm quan nước dùng trong thực phẩm	29
Bài 3. XÁC ĐỊNH pH, ĐỘ KIỀM	31
1. Xác định pH.....	31
1.1. Nguyên tắc	31
1.2. Dụng cụ, hóa chất	31
1.3. Cách tiến hành	31
1.4. Kết quả.....	31
2. Xác định độ kiềm.....	31
2.1. Nguyên tắc của phương pháp chuẩn độ acid – base	31
2.2. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị.....	32
2.3. Chuẩn bị hóa chất	33
2.4. Chuẩn bị mẫu.....	37
2.5. Chuẩn độ	38
2.6. Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm	39
2.7. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị	40
2.8. Một số nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục	41
3. Thực hành xác định pH, độ kiềm.....	42
Bài 4. XÁC ĐỊNH ĐỘ CỨNG CỦA NƯỚC	45
1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị.....	46
2. Chuẩn bị hóa chất	48
3. Chuẩn bị mẫu.....	53
4. Chuẩn độ.....	54
5. Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm.....	55
6. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị.....	56
7. Một số nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục	57

8. Thực hành xác định độ cứng của nước.....	59
Bài 5. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CLORUA (Cl^-)	63
1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị.....	64
2. Chuẩn bị hóa chất	65
3. Chuẩn bị mẫu.....	70
4. Trung hòa mẫu.....	70
5. Chuẩn độ.....	71
6. Làm song song 1 mẫu trắng.....	72
7. Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm.....	72
8. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị.....	73
9. Một số nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục	74
10. Thực hành xác định hàm lượng Cl^- của nước	76
Bài 6. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NH_4^+	79
1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị.....	80
2. Chuẩn bị hóa chất	82
3. Chuẩn bị mẫu.....	87
4. Chứng cất.....	88
5. Chuẩn độ.....	89
6. Làm song song 1 mẫu trắng.....	90
7. Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm.....	90
8. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị.....	91
9. Thực hành xác định hàm lượng NH_4^+ trong nước	93
Bài 7. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG OXY HÒA TAN.....	96
1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị.....	96
2. Chuẩn bị hóa chất	98
3. Chuẩn bị mẫu.....	101
4. Chuẩn độ.....	103
5. Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm.....	104
6. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị.....	105
7. Thực hành xác định hàm lượng oxy hòa tan	106
Bài 8. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG Cl_2 DƯ.....	109
1. Nguyên lý làm việc của máy quang phổ.....	109
2. Chuẩn bị dụng cụ	109
3. Chuẩn bị hóa chất	109
4. Tiến hành pha dãy dung dịch chuẩn sử dụng và dung dịch mẫu phân tích	110
5. Chuyển dung dịch chuẩn và mẫu đã pha chế vào ống đo.....	110
6. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dãy dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu	110
7. Lập đường chuẩn	113
8. Đọc kết quả.....	115
9. Một số nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục	115
Bài 9. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NO_3^-	116
1. Nguyên lý làm việc của máy quang phổ.....	116
2. Chuẩn bị dụng cụ	116

3. Chuẩn bị hóa chất	116
4. Tiến hành pha dãy dung dịch chuẩn sử dụng và dung dịch mẫu phân tích	117
5. Chuyển dung dịch chuẩn và mẫu đã pha chế vào ống đo	117
6. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dãy dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu	117
7. Lập đường chuẩn	120
8. Đọc kết quả	122
9. Một số nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục	122
Bài 10. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG SẮT	123
1. Nguyên lý làm việc của máy quang phổ	123
2. Chuẩn bị dụng cụ	123
3. Chuẩn bị hóa chất	123
4. Tiến hành pha dãy dung dịch chuẩn sử dụng và dung dịch mẫu phân tích	124
5. Chuyển dung dịch chuẩn và mẫu đã pha chế vào ống đo	124
6. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dãy dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu	124
7. Lập đường chuẩn	127
8. Đọc kết quả	129
9. Một số nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục	129
Bài 11. XÁC ĐỊNH ĐỘ OXY HÓA	130
1. Khái niệm độ oxy hóa của nước	130
2. Nguyên tắc xác định độ oxy hóa của nước	130
3. Quy trình xác định độ oxy hóa của nước	130
3.1. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ	130
3.2. Chuẩn bị hóa chất	131
3.3. Chuẩn bị mẫu	131
3.4. Kiểm tra lại độ chuẩn của dung dịch KMnO_4	131
3.5. Chuẩn độ trong môi trường acid	132
3.6. Chuẩn độ trong môi trường base	132
3.7. Tính kết quả	132
4. Thực hành xác định độ oxy hóa của nước	132
Bài 12. XÁC ĐỊNH TỔNG CHẤT RẮN HÒA TAN	133
1. Khái niệm tổng chất rắn hòa tan trong nước	133
2. Nguyên tắc xác định tổng chất rắn hòa tan trong nước	133
3. Quy trình xác định tổng chất rắn hòa tan trong nước	133
3.1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị	133
3.2. Chuẩn bị mẫu	135
3.3. Đo tổng chất rắn hòa tan	136
3.4. Tính toán và biểu diễn kết quả	137
3.5. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị	138
4. Thực hành xác định tổng chất rắn hòa tan trong nước	139
Bài 13. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG FLO	141
1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị	142
2. Chuẩn bị hóa chất	143
3. Chuẩn bị mẫu	149
4. Pha dãy dung dịch tiêu chuẩn	151
5. Xây dựng đường chuẩn	152

6. Đo mật độ quang của mẫu	154
7. Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm.....	156
8. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị.....	157
9. Thực hành xác định hàm lượng Flo.....	159
BÀI 14. XÁC ĐỊNH <i>COLIFORMS</i>	163
1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị.....	163
2. Chuẩn bị môi trường, dịch pha loãng	166
3. Chuẩn bị mẫu thử	170
4. Cấy mẫu lên môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc	172
5. Nuôi ủ	175
6. Cấy chuyển mẫu lên môi trường thử nghiệm khẳng định	176
7. Quan sát, đọc, tính kết quả	178
8. Báo cáo thử nghiệm.....	180
9. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị.....	181
10. Thực hành xác định <i>Coliforms</i>	182
BÀI 15. XÁC ĐỊNH <i>E.COLI</i>	185
1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị.....	186
2. Chuẩn bị môi trường, dịch pha loãng	189
3. Chuẩn bị mẫu thử	193
4. Cấy mẫu lên môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc LSB.....	195
5. Cấy chuyển mẫu lên môi trường nuôi cấy chọn lọc EC.....	199
6. Thử nghiệm khẳng định sinh hóa	201
7. Quan sát, đọc, tính kết quả	205
8. Báo cáo thử nghiệm.....	208
9. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị.....	208
10. Thực hành xác định <i>E.Coli</i>	209
HƯỚNG DẪN GIẢNG DẠY MÔ ĐUN.....	212

GIÁO TRÌNH MÔ ĐUN KIỂM NGHIỆM NƯỚC DỪNG TRONG THỰC PHẨM

Mã mô đun: 100112

Bài 1. LẤY MẪU VÀ GIỚI THIỆU VỀ CÁC CHỈ TIÊU CHẤT LƯỢNG CỦA NƯỚC DỪNG TRONG THỰC PHẨM

Mục tiêu:

- Trình bày được cách lấy mẫu của nước dừng trong thực phẩm;
- Nêu được các chỉ tiêu chất lượng của nước dừng trong thực phẩm;
- Lựa chọn được dụng cụ, thiết bị cần sử dụng để lấy mẫu nước dừng trong thực phẩm;
- Thao tác lấy mẫu nước thành thạo đảm bảo chính xác;
- Tuân thủ theo các bước thực hiện công việc và nội quy phòng kiểm nghiệm.

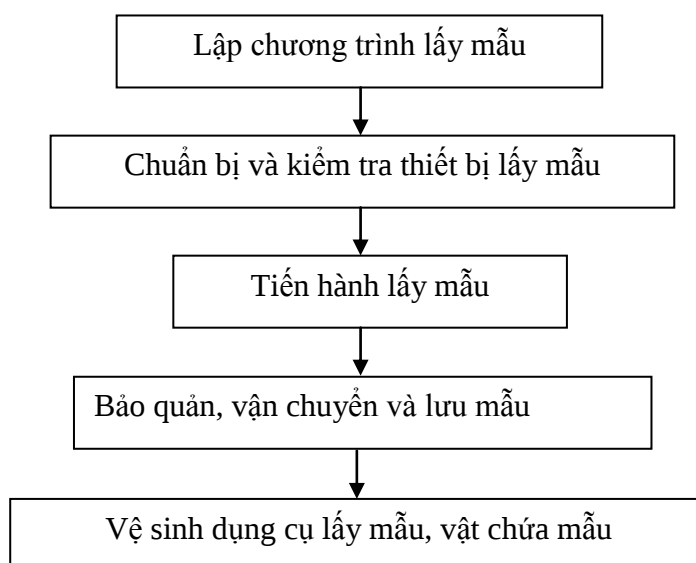
1. Lấy mẫu

Ý nghĩa của việc lấy mẫu nước dừng cho sản xuất thực phẩm

Nước có vai trò quan trọng trong ngành công nghiệp thực phẩm, nước được sử dụng trong suốt dây chuyền sản xuất như xử lý nguyên liệu, chế biến... Do đó chất lượng của nước ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng của sản phẩm thực phẩm. Chính vì vậy, việc lấy mẫu nước là một giai đoạn rất quan trọng trong việc đánh giá chất lượng nước dừng, bởi vì mẫu sẽ phản ánh chính xác mọi đặc điểm chất lượng đặc trưng của nước. Nếu lấy mẫu không cẩn thận hoặc không đúng phương pháp thì dù phương pháp phân tích có chính xác cũng dẫn đến việc đánh giá không đúng chất lượng nước được sử dụng.

Quy trình chung

Quy trình chung lấy mẫu nước dừng trong thực phẩm thể hiện ở hình 1.1.



Hình 1.1. Quy trình chung lấy mẫu nước dừng trong thực phẩm

1.1. Lập chương trình lấy mẫu

1.1.1. Nguyên tắc thực hiện

a. Mục đích của việc lấy mẫu nước dùng cho sản xuất thực phẩm

Chất lượng của nước được sử dụng trong sản xuất thực phẩm được đánh giá qua nhiều chỉ tiêu: cảm quan, lý hóa, vi sinh... Do đó, mục đích của việc lấy mẫu nước nhằm:

- Kiểm tra chất lượng của nước trong quá trình sản xuất thông qua các chỉ tiêu chất lượng của nước: cảm quan, lý hóa, vi sinh... được quy định trong các tiêu chuẩn an toàn đã được đề ra.

- Ngoài ra, việc lấy mẫu nước cũng nhằm kiểm soát chất lượng nước từ nhà máy xử lý nước, trước khi quyết định sử dụng vào sản xuất thực phẩm.

b. Địa điểm lấy mẫu nước

Tùy thuộc vào mục đích lấy mẫu, có thể tiến hành lấy mẫu nước tại các địa điểm như sau:

- Bể chứa nước dùng
- Hệ thống phân phối nước, tại nơi đặt các vòi nước
- Các trạm xử lý nước trong các nhà máy sản xuất thực phẩm

c. Vị trí lấy mẫu

Vị trí lấy mẫu được xác định tùy thuộc vào mục đích lấy mẫu để tiến hành xác định chỉ tiêu chất lượng gì. Có thể tiến hành lấy mẫu nước tại các vị trí tương ứng với từng trường hợp như sau:

- Bể chứa nước dùng: Mẫu cần được lấy tại vị trí ống vào và ống ra của bể chứa và càng gần bể càng tốt. Nếu bể không có van lấy mẫu thì có thể lấy mẫu bằng cách mức trực tiếp tại nhiều vị trí trong bể chứa.

- Hệ thống phân phối nước: Mẫu cần được lấy ở nhiều vị trí khác nhau trong hệ thống phân phối và đặc biệt là ở các đầu mút của hệ thống (các vòi nước).

- Các trạm xử lý nước trong các nhà máy sản xuất thực phẩm: Mẫu nước được lấy tại vị trí nơi đường vào của trạm khử trùng, càng gần trạm càng tốt. Khi lấy mẫu ở đường ra cần tính đến thời gian tiếp xúc thích hợp giữa nước và chất khử trùng.

d. Thể tích mẫu nước cần lấy

Thể tích mẫu cần lấy phụ thuộc vào loại và số lượng các phép phân tích cần làm. Nếu cần xác định những nồng độ rất nhỏ, thể tích mẫu có thể sẽ lớn. Cần tham khảo các tiêu chuẩn thích hợp về các phương pháp phân tích để biết thể tích mẫu cần cho mỗi xác định.

1.1.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Xác định mục đích lấy mẫu	Hồ sơ lấy mẫu	Mục đích lấy mẫu phải được ghi rõ ràng cụ thể trong hồ sơ lấy mẫu
2	Xác định địa điểm lấy mẫu	Hồ sơ lấy mẫu	Địa điểm lấy mẫu phải được xác định đúng (Cụ

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			thể: Tại bể chứa, nơi đặt vòi nước, trạm xử lý...)
3	Xác định vị trí lấy mẫu	Hồ sơ lấy mẫu	Xác định đúng vị trí theo quy định (cụ thể tại vị trí nào ứng với địa điểm lấy mẫu)
4	Liệt kê các loại dụng cụ lấy mẫu phù hợp	Hồ sơ lấy mẫu	Liệt kê đầy đủ các loại dụng cụ lấy mẫu phù hợp với mục đích lấy mẫu đã được đề ra.
5	Xác định lượng mẫu cần lấy	Hồ sơ lấy mẫu	Tính toán đúng thể tích mẫu cần lấy đủ để phân tích các chỉ tiêu chất lượng đã được đề ra và lưu mẫu.

1.1.3. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Xác định lượng mẫu cần lấy không chính xác	- Tính toán sai lượng mẫu cần lấy tương ứng để phân tích các chỉ tiêu chất lượng - Không tính đến lượng mẫu lưu.	Tính toán đúng thể tích mẫu cần lấy đủ để phân tích các chỉ tiêu chất lượng đã được đề ra và lưu mẫu.

1.2. Chuẩn bị và kiểm tra thiết bị lấy mẫu

1.2.1. Thiết bị lấy mẫu

a. Bình chứa mẫu

- Bình chứa mẫu cần chống được sự mất mát chất do hấp thụ, bay hơi và ô nhiễm bởi các chất lạ. Những yếu tố cần thiết khi chọn bình chứa mẫu là:

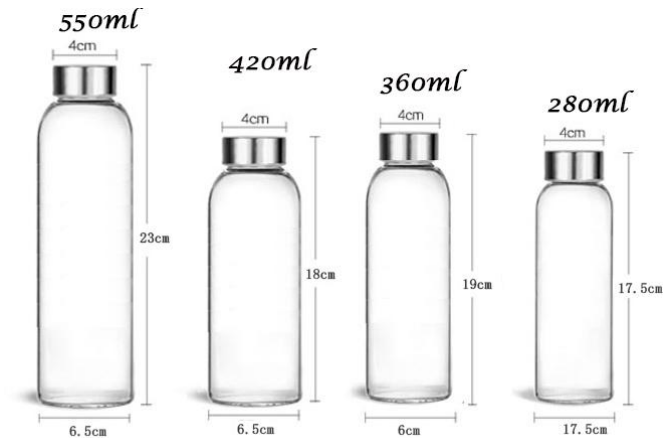
- Bền chắc
- Dễ đậy kín
- Chịu nhiệt
- Hình dạng, kích cỡ phù hợp
- Dễ làm sạch và có thể dùng lại
- Dễ kiểm và giá rẻ

- Có thể sử dụng các loại bình chứa mẫu làm từ vật liệu như thủy tinh, chất dẻo... thỏa mãn các yêu cầu trên.

b. Các loại thiết bị lấy mẫu

- Thiết bị lấy mẫu thủ công:

Thiết bị lấy mẫu nước đơn giản nhất là xô hoặc bình rộng miệng buộc vào một cái cán có độ dài thích hợp. Thể tích không nên nhỏ hơn 100ml. Khi các mẫu lấy thủ công dùng để chuẩn bị mẫu tổ hợp thì thể tích của xô, bình cần phải chính xác đến 5%. Lấy mẫu thủ công có thể dùng bình Kemmerer, bình này là một ống có dung tích từ 1 đến 3 lít và 2 đầu đều có nắp. Thiết bị lấy mẫu thủ công phải làm bằng vật liệu trơ, không gây ảnh hưởng đến phân tích sau này.



Hình 1.2. Bình chứa mẫu nước bằng thủy tinh



Hình 1.3. Bình chứa mẫu nước bằng nhựa



Hình 1.4. Một số thiết bị lấy mẫu

Trước khi lấy mẫu, thiết bị phải được làm sạch bằng chất tẩy rửa và nước. Thiết bị lấy

mẫu có thể được tráng bằng chính nước cần lấy ngay trước khi lấy mẫu, điều đó làm giảm khả năng gây sai số khi phân tích. Lưu ý khi lấy mẫu để phân tích dầu mỡ hoặc phân tích vi sinh vật thì không được tráng bằng nước cần lấy.

- Thiết bị lấy mẫu tự động:

Nhiều thiết bị lấy mẫu có thể cho phép tự động lấy mẫu liên tục hoặc hàng loạt. Ưu điểm của loại này là dễ vận chuyển và lấy mẫu được với nhiều trường hợp.

1.2.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Chuẩn bị dụng cụ chứa mẫu	Bình thủy tinh, bình chất dẻo	Bình chứa mẫu phải sạch, khô, có tác dụng bảo vệ được mẫu, không làm ảnh hưởng đến kết quả phân tích tính chất vật lý và hoá học của mẫu. Bình chứa mẫu phải vô trùng đối với chỉ tiêu vi sinh
2	Chuẩn bị thiết bị lấy mẫu	- Xô, bình miệng rộng - Bình Kemmerer - Thiết bị lấy mẫu tự động	- Thiết bị lấy mẫu phải làm bằng vật liệu trơ, không gây ảnh hưởng đến phân tích sau này - Thiết bị lấy mẫu phải được vô trùng trước khi sử dụng

1.2.3. Các chú ý về an toàn lao động

Khi sử dụng các cụ chứa mẫu hay thiết bị lấy mẫu bằng thủy tinh phải cẩn thận, tránh bể vỡ.

1.3. Tiến hành lấy mẫu

1.3.1. Nguyên tắc thực hiện

a. Các loại mẫu

- Mẫu đơn:

Là mẫu gián đoạn, thường được lấy thủ công hoặc tự động từ nước trên bề mặt hoặc ở độ sâu nhất định, hoặc ở dưới đáy. Mỗi mẫu thường chỉ đại diện cho chất lượng nước ở thời điểm hoặc địa điểm được lấy mẫu.

Nên lấy mẫu đơn khi dòng nước là không đồng nhất, hoặc khi các thông số cần nghiên cứu thay đổi, hoặc khi dùng mẫu tổ hợp sẽ không phân biệt được mẫu riêng lẻ vì chúng phản ứng với nhau. Nên dùng mẫu đơn để xác định những thông số không ổn định như nồng độ chất khí hòa tan, clo dư...

- Mẫu tổ hợp:

Có thể lấy thủ công hay tự động, không phụ thuộc vào loại mẫu (theo thời gian, dòng chảy, thể tích, vị trí...). Các mẫu được lấy liên tục có thể trộn lẫn để được các mẫu tổ hợp (mẫu trộn). Các mẫu tổ hợp cung cấp các giá trị trung bình của thành phần nước. Do đó trước khi trộn các mẫu riêng cần xem xét có cần các giá trị đó không hoặc các thông số quan tâm có thay đổi nhiều trong quá trình lấy mẫu không.

Mẫu tổ hợp có giá trị khi sự tuân thủ với một mức giới hạn là được dựa trên giá trị trung bình của chất lượng nước.

b. Phương pháp lấy mẫu

Tùy thuộc vào địa điểm lấy mẫu mà sử dụng các phương pháp lấy mẫu khác nhau:

- *Bể chứa nước:* Mẫu cần được lấy từ ống vào và ống ra của bể chứa và càng gần bể càng tốt. Nói chung, phải để 2 đến 3 phút nước chảy tự do để xả hết nước cũ trong đường lấy mẫu rồi mới lấy. Nếu điều đó vẫn chưa đủ thì tính thể tích nước cần để choáng chỗ trong đường ống, ước lượng thời gian chảy cần thiết ở một tốc độ thích hợp, rồi sau đó áp dụng thời gian chảy gấp 5 lần thời gian cần cho thể tích đó. Nếu bể chứa ngầm dưới đất thì đo nhiệt độ dòng chảy có thể biết khi nào nước từ bể đã ra đến nơi.

Đôi khi, thí dụ bể chứa lâu không dùng, hoặc được thau rửa, hoặc khi không có van lấy mẫu trên đường ống ra thì, nếu cần, có thể lấy mẫu mức từ bể nước đang dùng mặc dù cách này nên tránh. Khi lấy mẫu theo kiểu mức trực tiếp cần chú ý trước khi lấy nước dụng cụ phải được đưa đi khử trùng và tránh đưa các mảnh vụn vào nước để tránh làm bẩn nước trong bể chứa.

- *Hệ thống phân phối nước:* Mẫu cần được lấy ở nhiều vị trí khác nhau trong hệ thống phân phối và đặc biệt là ở các đầu mút của hệ thống, thí dụ từ các vòi lấy mẫu đã xác định từ trước được lắp ở trước tất cả các giai đoạn xử lý tiếp theo. Cần phải khử trùng bằng cách làm sạch bề mặt vòi tiếp xúc với nước và khử trùng thí dụ bằng dung dịch clo 5% đến 15%. Để cho dung dịch clo chảy hết mới lấy mẫu. Ống dẫn đến vòi lấy mẫu càng ngắn càng tốt. Để lấy mẫu phân tích vi sinh, vòi dùng để lấy mẫu phải được khử trùng bằng lửa hoặc các biện pháp có hiệu quả tương đương, thí dụ ngâm vào dung dịch clo rồi cho nước xả mạnh.

Khi lấy mẫu từ hệ thống phân phối, thời gian xả nước cần phù hợp với mục đích lấy mẫu. Nói chung 2 đến 3 phút là đủ. Có trường hợp phải xả đến 30 phút trước khi lấy, thí dụ như khi lấy mẫu ở một nhánh chính mà ở đó có nhiều cặn lắng thì cần xả ra hết trước khi lấy.

Nếu cần nghiên cứu các chất tan ra từ trường ống hoặc sự sinh trưởng của vi sinh ở trong trường ống, mẫu cần lấy ngay khi nước vừa chảy ra

- *Các trạm xử lý nước trong các nhà máy sản xuất thực phẩm:* Mẫu nước được lấy tại vị trí nơi đường vào của trạm khử trùng, càng gần trạm càng tốt. Khi lấy mẫu ở đường ra cần tính đến thời gian tiếp xúc thích hợp giữa nước và chất khử trùng. Trong một vài thiết bị, thời gian tiếp xúc này phụ thuộc vào cơ cấu khử trùng trong hệ thống phân phối. Trong những trường hợp đó mẫu dùng để thử hiệu quả của giai đoạn khử trùng cần được lấy ở một điểm thích hợp trong hệ thống phân phối. Cũng có thể dùng một ống lấy mẫu để lấy mẫu ngay trong trạm xử lý sau khi để một thời gian tiếp xúc, nhưng không khuyến khích dùng cách này.

c. Tần số và thời gian lấy mẫu

Tần số và thời gian lấy mẫu thay đổi theo mục đích lấy mẫu. Tần số lấy mẫu phụ thuộc vào nhiều yếu tố đó là:

- Lượng nước cần dùng cho quá trình sản xuất thực phẩm;
- Thể tích nước được phân phối;
- Chất lượng nước thô;
- Sự thay đổi chất lượng nước thô;
- Những độc hại về sức khỏe có liên quan;
- Tính phức tạp và đặc điểm của hệ thống phân phối;
- Mục đích lấy mẫu (ví dụ kiểm soát chung, kiểm soát tác dụng của các chất đến chất lượng nước);
- Các thông số đặc biệt.

d. Kỹ thuật lấy mẫu

Trước khi lấy mẫu, thông thường cần cho nước chảy tự do trong một thời gian tùy theo yêu cầu của mục đích lấy mẫu

- *Lấy mẫu để phân tích lí, hoá, phóng xạ:*

Khi lấy mẫu từ vòi của hệ thống phân phối hoặc của bể chứa, cần để nước chảy từ từ vào bình chứa mẫu. cho đến đầy tràn. Nếu mẫu cần bảo quản hoặc để phân tích vi sinh thì không lấy đầy tràn. Sau khi nạp đầy thì đậy kín và đảm bảo không có bọt khí.

Để xác định oxi hoặc các khí hoà tan, dùng một ống nối vào vòi hoặc đầu ra của bơm và cắm sâu đến đáy bình chứa mẫu. Nước chảy chậm qua ống đi vào bình chứa rồi xử lí.

- *Lấy mẫu phân tích vi sinh:*

Khi lấy mẫu từ ống lấy mẫu hoặc vòi nước, cần xả hết nước đọng từ khoảng 2 giờ trở lên, trừ trường hợp nghiên cứu tính chất vi sinh trong hệ thống trường ống đã định. Sau khi để nước chảy tự do, lấy mẫu trực tiếp vào bình chứa. Để tránh ô nhiễm thứ cấp, nếu cần, phải diệt trùng trường nước ra bằng ngọn lửa. Lấy mẫu xong phải đậy kín bình chứa, chú ý tránh ô nhiễm do nút.

Nên dùng bình chứa rộng miệng, dung tích ít nhất 300ml, có nút thủy tinh nhám hoặc nắp vặn. Các bình chứa mẫu phải được khử trùng trước ở 120⁰C và 200kPa trên áp suất khí quyển bằng nồi hấp trong 20 phút, hoặc dùng các kĩ thuật hoá học, sấy tương đương.

1.3.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Tiến hành lấy mẫu	- Bình thủy tinh, bình chất dẻo - Xô, bình miệng rộng - Bình Kemmerer - Thiết bị lấy mẫu tự động	Tiến hành lấy mẫu đúng vị trí, phương pháp và kỹ thuật lấy mẫu tương ứng với từng địa điểm lấy mẫu đã được xác định (Ví dụ: bể chứa nước, hệ thống

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			phân phối, trạm xử lý...) theo mục 3.1 - Lấy đủ thể tích mẫu nước đã tính toán - Mẫu lấy xong phải được đậy kín, đảm bảo đúng tình trạng ban đầu của mẫu.
2	Ghi nhãn	Nhãn ghi mẫu	Nhãn phải có kích cỡ thích hợp, sáng màu, không thấm nước, khó tẩy xóa, dễ đọc và bao gồm một số thông tin cần thiết theo quy định
3	Niêm phong	Dấu niêm phong	Niêm phong được dán ở phần mép ngoài của mỗi gói mẫu (nếu cần). Dấu niêm phong được sử dụng là con dấu riêng của đơn vị lấy mẫu.
4	Lập biên bản lấy mẫu	Biên bản lấy mẫu	Người lấy mẫu và đại diện của các bên liên quan (người sản xuất, tổ chức sản xuất) cùng chứng kiến quá trình lấy mẫu và ký vào biên bản. Biên bản phải được ghi đầy đủ và chính xác các thông tin.

1.3.3. Các chú ý về an toàn lao động

Khi sử dụng các cụ chứa mẫu hay thiết bị lấy mẫu bằng thủy tinh phải cẩn thận, tránh bể vỡ.

1.3.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Lấy mẫu kiểm tra vi sinh bị nhiễm vi sinh vật lạ	Các dụng cụ lấy mẫu, vật chứa mẫu không vô trùng	Các dụng cụ lấy mẫu, vật chứa mẫu phải vô trùng
2	Mẫu nước lấy không mang tính đại diện cho nguồn nước	Lấy mẫu không tuân thủ theo quy định	Lấy mẫu phải tuân thủ theo quy định

1.4. Bảo quản, vận chuyển và lưu mẫu

1.4.1. Nguyên tắc thực hiện

- Phương thức bảo quản mẫu:

Phương thức bảo quản mẫu nước theo chỉ tiêu phân tích được trình bày trong bảng 1.1.

Bảng 1.1. Phương thức bảo quản mẫu nước theo chỉ tiêu phân tích

<i>Chỉ tiêu phân tích</i>	<i>Phương thức bảo quản</i>	<i>Thời gian tồn trữ tối đa</i>
Độ cứng	Không cần thiết	
Calci (Ca^{2+})	Không cần thiết	
Cloride (Cl^-)	Không cần thiết	
Floride (F^-)	Không cần thiết	
Độ dẫn điện	4 ⁰ C	28 giờ
Độ acid, độ kiềm	4 ⁰ C	24 giờ
Mùi	4 ⁰ C	6 giờ
Màu	4 ⁰ C	48 giờ
Sulphate	4 ⁰ C; pH < 8	28 ngày
H ₂ S	Thêm 2mg/lzine acetate	7 ngày
DO	(0,7 ml H ₂ SO ₄ + 1ml NaN ₃) /300ml; 10-20 ⁰ C	8 giờ
COD	2ml/1H ₂ SO ₄	7 ngày
Dầu và mỡ	2ml/1H ₂ SO ₄ , 4 ⁰ C	28 ngày
Cacbon hữu cơ	2ml/1HCl, pH<2	7 ngày
Cyanide	NaOH, pH>12,4, trong tối	24 giờ
Phenol	H ₂ SO ₄ , pH<2, 4 ⁰ C	24 giờ
N-NH ₃	4 ⁰ C	7 ngày
N-NO ₂ ; N-NO ₃	H ₂ SO ₄ , pH<2, 4 ⁰ C	Phân tích ngay
Phosphate	4 ⁰ C	48 giờ
Fe, Mn	HNO ₃ , pH<2, 4 ⁰ C	6 tháng

Cách bảo quản và thời gian lưu trữ trên chỉ có tính hướng dẫn, việc phân tích thực hiện càng sớm càng tốt. Lưu ý hoạt động của vi sinh vật cũng làm ảnh hưởng nhiều đến tính chất mẫu nước trong thời gian tồn trữ.

1.4.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Bảo quản mẫu	- Thùng, hộp - Phòng lạnh	Mẫu nước phải được đặt vào thùng, hộp, tránh ánh sáng mặt trời chiếu trực tiếp, tránh bề vỡ. Nhiệt độ bảo quản tùy thuộc vào chỉ tiêu cần phân tích, thường bảo quản ở 4°C đến 10°C
2	Vận chuyển mẫu	- Mẫu - Xe chuyên dụng	Mẫu phải được vận chuyển xe chuyên dụng, đảm bảo 4°C đến 10°C
3	Lưu mẫu (nếu có)	- Mẫu gửi - Phiếu yêu cầu thử nghiệm - Biên bản lấy mẫu - Sổ lưu	Thời gian lưu mẫu càng nhanh càng tốt và tốt nhất là trong vòng 24 h mẫu được tiếp nhận tại phòng thử nghiệm Khi lưu mẫu phải đầy đủ các giấy tờ kèm theo và mẫu phải còn nguyên dấu niêm phong

1.4.3. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Mẫu bị hư hỏng	- Do quá trình vận chuyển không đảm bảo về nhiệt độ - Do để quá thời gian quy định mà không tiến hành phân tích hoặc lưu mẫu	- Đảm bảo chặt chẽ điều kiện về nhiệt độ trong quá trình vận chuyển - Nên tiến hành phân tích mẫu ngay sau khi chuyển về phòng kiểm nghiệm hoặc lưu mẫu trong điều kiện thích hợp.

1.5. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ chứa mẫu, vật lấy mẫu

1.5.1. Phương pháp thực hiện

- Dụng cụ thủy tinh chứa mẫu: được rửa bằng xà phòng và dùng chổi để lấy chất bẩn trong dụng cụ, sau đó rửa sạch bằng nước máy, cuối cùng tráng qua nước cất. Sau đó, được sấy khô ở nhiệt độ 105⁰C, 1 giờ.

- Xô nhựa, bình miệng rộng: Dụng cụ được rửa bằng xà phòng và rửa lại bằng nước sạch, treo ngược cho ráo nước.

- Thùng, hộp bảo quản mẫu: Vệ sinh sạch bên trong và ngoài thùng, để ráo.

- Bình Kemmerer, Thiết bị lấy mẫu tự động: Tráng rửa bằng nước xà phòng và nước sạch nhiều lần.

1.5.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Vệ sinh dụng cụ chứa mẫu	- Bình thủy tinh, bình chất dẻo	Phải được rửa sạch, không còn sót mẫu. Dụng cụ thủy tinh phải được sấy khô (105 ⁰ C, 1 giờ) Sắp xếp theo quy định
2	Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ lấy mẫu	- Xô, bình miệng rộng - Bình Kemmerer - Thiết bị lấy mẫu tự động	Tráng rửa bằng nước xà phòng và nước sạch nhiều lần Đảm bảo sạch sẽ Treo ngược cho ráo nước.

1.5.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Cần thận tránh làm bể vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh.

- Sắp xếp các dụng cụ theo từng chủng loại riêng biệt.

1.5.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Các dụng cụ chưa được vệ sinh sạch sẽ	Vệ sinh không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật	Vệ sinh cách dụng cụ thủy tinh chứa mẫu; xô, bình lấy mẫu; thùng hộp đựng mẫu đúng quy định.

2. Các chỉ tiêu chất lượng của nước dùng trong thực phẩm

2.1. Chỉ tiêu cảm quan

Bảng 1.1. Chỉ tiêu chất lượng cảm quan

STT	Tên chỉ tiêu	Yêu cầu
1	Màu sắc	≤ 15 TCU
2	Mùi	Không có mùi lạ
3	Độ đục	≤ 5 NTU

2.2. Chỉ tiêu lý hóa

Bảng 1.2. Chỉ tiêu chất lượng lý hóa

STT	Tên chỉ tiêu	Giới hạn tối đa cho phép (mg/l)
1	Cl ₂ dư	0,3 – 0,5
2	pH	6 – 8,5
3	Hàm lượng amoni	3
4	Hàm lượng Fe tổng số	0,5
5	Chỉ số pemanganat	4
6	Độ cứng tính theo CaCO ₃	350
7	Hàm lượng clorua	300
8	Hàm lượng florua	1,5
9	Hàm lượng asen tổng số	0,01

2.3. Chỉ tiêu vi sinh

Bảng 1.3. Chỉ tiêu chất lượng vi sinh

STT	Tên chỉ tiêu	Giới hạn tối đa cho phép (mg/l)
1	Coliform tổng số	50 – 100
2	<i>E. coli</i> hoặc Coliform chịu nhiệt	0 – 20

3. Thực hành lấy mẫu nước dùng trong thực phẩm

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
1	Xác định mục đích lấy mẫu	Hồ sơ lấy mẫu	Mục đích lấy mẫu phải được ghi rõ ràng cụ thể trong hồ sơ lấy mẫu	
2	Xác định địa điểm lấy mẫu	Hồ sơ lấy mẫu	Địa điểm lấy mẫu phải được xác định đúng (Cụ thể: Tại bể chứa, nơi đặt vòi nước, trạm xử lý...)	

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
3	Xác định vị trí lấy mẫu	Hồ sơ lấy mẫu	Xác định đúng vị trí theo quy định (cụ thể tại vị trí nào ứng với địa điểm lấy mẫu)	
4	Liệt kê các loại dụng cụ lấy mẫu phù hợp	Hồ sơ lấy mẫu	Liệt kê đầy đủ các loại dụng cụ lấy mẫu phù hợp với mục đích lấy mẫu đã được đề ra.	
5	Xác định lượng mẫu cần lấy	Hồ sơ lấy mẫu	Tính toán đúng thể tích mẫu cần lấy đủ để phân tích các chỉ tiêu chất lượng đã được đề ra và lưu mẫu.	
6	Chuẩn bị dụng cụ chứa mẫu	Bình thủy tinh, bình chất dẻo	Bình chứa mẫu phải sạch, khô, có tác dụng bảo vệ được mẫu, không làm ảnh hưởng đến kết quả phân tích tính chất vật lý và hoá học của mẫu. Bình chứa mẫu phải vô trùng đối với chỉ tiêu vi sinh	Khi sử dụng các dụng cụ chứa mẫu hay thiết bị lấy mẫu bằng thủy tinh phải cẩn thận, tránh bể vỡ
7	Chuẩn bị thiết bị lấy mẫu	- Xô, bình miệng rộng - Bình Kemmerer - Thiết bị lấy mẫu tự động	- Thiết bị lấy mẫu phải làm bằng vật liệu trơ, không gây ảnh hưởng đến phân tích sau này - Thiết bị lấy mẫu phải được vô trùng trước khi sử dụng	
8	Tiến hành lấy mẫu	- Bình thủy tinh, bình chất dẻo - Xô, bình miệng rộng - Bình	Tiến hành lấy mẫu đúng vị trí, phương pháp và kỹ thuật lấy mẫu tương ứng với từng địa điểm lấy mẫu đã được xác định (Ví dụ: bể chứa nước, hệ thống phân	Khi sử dụng các dụng cụ chứa mẫu hay thiết bị lấy mẫu bằng thủy tinh phải cẩn thận, tránh bể vỡ

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
		Kemmerer - Thiết bị lấy mẫu tự	phối, trạm xử lý...) theo mục 3.1 - Lấy đủ thể tích mẫu nước đã tính toán - Mẫu lấy xong phải được đậy kín, đảm bảo đúng tình trạng ban đầu của mẫu.	
9	Ghi nhãn	- Nhãn ghi mẫu	Nhãn phải có kích cỡ thích hợp, sáng màu, không thấm nước, khó tẩy xóa, dễ đọc và bao gồm một số thông tin cần thiết theo quy định	
10	Niêm phong	- Dấu niêm phong	Niêm phong được dán ở phần mép ngoài của mỗi gói mẫu (nếu cần). Dấu niêm phong được sử dụng là con dấu riêng của đơn vị lấy mẫu.	
11	Lập biên bản lấy mẫu	- Biên bản lấy mẫu	Người lấy mẫu và đại diện của các bên liên quan (người sản xuất, tổ chức sản xuất) cùng chứng kiến quá trình lấy mẫu và ký vào biên bản. Biên bản phải được ghi đầy đủ và chính xác các thông tin.	
12	Bảo quản mẫu	- Thùng, hộp - Phòng lạnh	Mẫu nước phải được đặt vào thùng, hộp, tránh ánh sáng mặt trời chiếu trực tiếp, tránh bề vỡ. Nhiệt độ bảo quản tùy thuộc vào chỉ tiêu cần phân tích, thường bảo quản ở 4°C đến 10°C	
13	Vận chuyển mẫu	- Mẫu	Mẫu phải được vận	

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
		- Xe chuyên dụng	chuyển xe chuyên dụng, đảm bảo 4°C đến 10°C	
14	Lưu mẫu (nếu có)	- Mẫu gửi - Phiếu yêu cầu thử nghiệm - Biên bản lấy mẫu - Sổ lưu	Thời gian lưu mẫu càng nhanh càng tốt và tốt nhất là trong vòng 24 h mẫu được tiếp nhận tại phòng thử nghiệm Khi lưu mẫu phải đầy đủ các giấy tờ kèm theo và mẫu phải còn nguyên dấu niêm phong	
15	Vệ sinh dụng cụ lấy mẫu, vật chứa mẫu	- Dụng cụ lấy mẫu - Vật chứa mẫu	Dụng cụ lấy mẫu, vật chứa mẫu phải được vệ sinh sạch sẽ và sắp xếp theo quy định.	- Sắp xếp các dụng cụ theo từng chủng loại riêng biệt

Bài 2. ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG CẢM QUAN NƯỚC DÙNG TRONG THỰC PHẨM

Mục tiêu:

- Lựa chọn và sử dụng dụng cụ thành thạo để đánh giá chất lượng cảm quan của nước dùng trong thực phẩm;
- Thực hiện thành thạo các bước xác định các chỉ tiêu cảm quan của nước dùng trong thực phẩm theo đúng trình tự, chính xác;
- Phân tích được các nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục trong quá trình xác định các chỉ tiêu cảm quan;
- Tuân thủ theo các bước thực hiện công việc và nội quy phòng kiểm nghiệm.

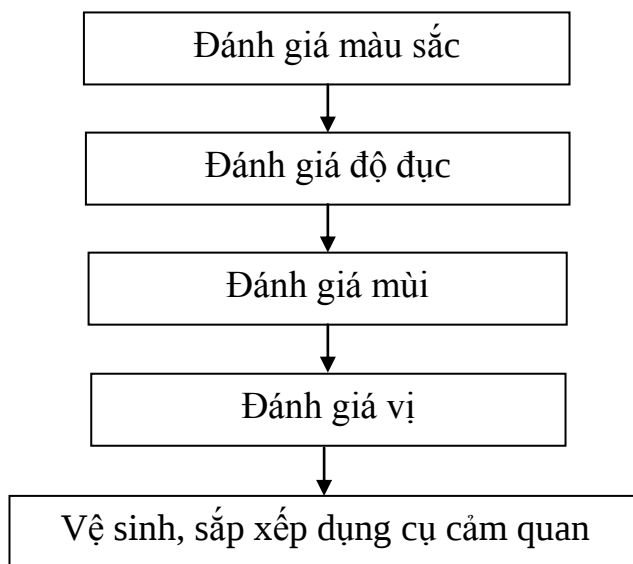
Ý nghĩa của việc đánh giá cảm quan nước dùng trong thực phẩm

Đánh giá cảm quan là một phương pháp khoa học được dùng để gọi lên, đo đạc, phân tích và giải thích các cảm nhận của con người đối với sản phẩm thông qua các giác quan là thị giác, khứu giác, xúc giác, vị giác và thính giác.

Nước có vai trò quan trọng trong ngành công nghiệp thực phẩm, nước được sử dụng trong suốt dây chuyền sản xuất như xử lý nguyên liệu, chế biến... Do đó chất lượng của nước ảnh hưởng trực tiếp đến chất lượng của sản phẩm thực phẩm. Chính vì vậy, việc đánh giá cảm quan nước đóng vai trò quan trọng, bởi vì thông qua các tính chất cảm quan của nước như màu sắc, độ đục, mùi và vị sẽ phản ánh được chất lượng nước sử dụng trong thực phẩm một cách tổng quát.

Quy trình chung

Quy trình đánh giá cảm quan nước dùng trong thực phẩm thể hiện ở hình 2.1.



Hình 2.1. Quy trình đánh giá cảm quan nước dùng trong thực phẩm

1. Đánh giá màu sắc

1.1. Nguyên tắc thực hiện

- Dụng cụ cần chuẩn bị:

+ Chai thủy tinh trong suốt và sạch, có dung tích 1 lít.

+ Yêu cầu: Tất cả các dụng cụ thủy tinh dùng để đựng mẫu phải rất sạch, bằng cách rửa với axit clohydric, hoặc với dung dịch làm sạch có hoạt tính bề mặt. Cuối cùng tráng bằng nước cất và để cho ráo nước.



Hình 2.2. Chai thủy tinh trong suốt

- Phương pháp chuẩn bị mẫu:

Thu thập mẫu thử vào các chai thủy tinh có dung tích ít nhất là 1 lít và tiến hành kiểm tra màu càng sớm càng tốt ngay sau khi thu thập mẫu. Nếu buộc phải bảo quản thì phải để trong chỗ tối. Trong một số trường hợp cần thiết không được để mẫu thử tiếp xúc với không khí. Cũng nên tránh thay đổi nhiệt độ.

- Phương pháp đánh giá:

Cho mẫu nước chưa lọc vào chai thủy tinh đã được chuẩn bị và kiểm tra cường độ màu, màu sắc của mẫu trong ánh sáng khuếch tán trên phông trắng. Nếu mẫu có chứa chất huyền phù, nếu có thể thì nên làm lắng trước khi kiểm tra.

Nhận xét về màu cần chỉ rõ màu của nước: trắng, vàng, hồng... và cường độ màu nếu có.

Yêu cầu nước dùng trong sản xuất thực phẩm phải trong suốt, không màu khi quan sát bằng mắt thường.

1.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Chuẩn bị dụng cụ	Chai thủy tinh 1 lít	Chai thủy tinh trong suốt, không màu, được làm sạch, khô ráo
2	Chuẩn bị mẫu	Mẫu nước đựng trong chai	Nếu chưa kiểm tra màu ngay sau khi chuẩn bị mẫu thì phải bảo quản mẫu trong chỗ tối, điều kiện

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			nhiệt độ phù hợp.
3	Đánh giá màu sắc	Mẫu nước đựng trong chai	- Đặt mẫu trên phông nền trắng để quan sát - Ghi lại nhận xét

1.3. Các chú ý về an toàn lao động

Khi sử dụng chất tẩy rửa hoặc dùng dung dịch acid để vệ sinh dụng cụ cần phải có bảo hộ như găng tay, khẩu trang...

1.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Dụng cụ chứa mẫu chưa thật sạch, ảnh hưởng đến việc quan sát màu sắc của nước	Vệ sinh dụng cụ đựng mẫu chưa sạch	Vệ sinh dụng cụ đựng mẫu đúng phương pháp đã đề ra
2	Quan sát màu của nước không chính xác	Không sử dụng phông nền trắng để quan sát	Quan sát lại với phông nền trắng.

2. Đánh giá độ đục

2.1. Nguyên tắc thực hiện

- *Dụng cụ, thiết bị cần chuẩn bị:*

+ Chai thủy tinh đựng mẫu trong suốt và sạch. Yêu cầu: Tất cả các dụng cụ thủy tinh dùng để đựng mẫu phải rất sạch, bằng cách rửa với axit clohydric, hoặc với dung dịch làm sạch có hoạt tính bề mặt. Cuối cùng tráng bằng nước cất và để cho ráo nước.

+ Máy đo độ đục



Hình 2.3. Máy đo độ đục

- *Phương pháp chuẩn bị mẫu:*

Thu thập mẫu thử vào các chai thủy tinh và tiến hành kiểm tra màu càng sớm càng tốt ngay sau khi thu thập mẫu. Nếu buộc phải bảo quản thì phải để trong chỗ tối. Trong một số trường hợp cần thiết không được để mẫu thử tiếp xúc với không khí. Cũng nên tránh thay đổi nhiệt độ.

- *Phương pháp đánh giá:*

Nước dùng trong thực phẩm thường có thể trong, đục nhẹ, hoặc rất đục. Quan sát bằng mắt và kết luận về mức độ đục của nước.

Hoặc có thể sử dụng máy đo độ đục: Cho mẫu nước vào ống đo của máy đo, để ổn định vài giây, đọc kết quả độ đục của nước được hiển thị trên màn hình với đơn vị NTU.

Yêu cầu về độ đục của nước dùng trong sản xuất thực phẩm phải trong giới hạn < 5 NTU đối với nước rửa nguyên liệu và < 2 NTU đối với nước dùng để trộn trong thực phẩm.

2.2. *Trình tự thao tác*

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Chuẩn bị dụng cụ	Chai thủy tinh	Chai thủy tinh trong suốt, không màu, được làm sạch, khô ráo
2	Chuẩn bị mẫu	Mẫu nước đựng trong chai	Nếu chưa kiểm tra độ đục ngay sau khi chuẩn bị mẫu thì phải bảo quản mẫu trong chỗ tối, điều kiện nhiệt độ phù hợp.
3	Quan sát bằng mắt	Mẫu nước phân tích	Đặt mẫu nước trên nền trắng, quan sát độ đục Kết luận về mức độ đục của nước: trong, ít đục, đục, rất đục.
4	Khởi động máy đo độ đục	Máy đo độ đục Tài liệu hướng dẫn sử dụng máy đo độ đục	Hoạt động tốt
5	Đánh giá độ đục	Máy đo độ đục	Cho mẫu vào ống đo, đặt vào máy Đọc kết quả hiển thị trên màn hình Đo 3 lần để lấy kết quả trung bình Kết luận về độ đục so với tiêu chuẩn.

2.3. *Các chú ý về an toàn lao động*

- Khi sử dụng chất tẩy rửa hoặc dung dịch acid để vệ sinh dụng cụ cần phải có bảo hộ như găng tay, khẩu trang...

- Sử dụng máy đo độ đục phải tuân theo hướng dẫn sử dụng

2.4. *Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục*

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Dụng cụ chứa mẫu chưa thật sạch, ảnh hưởng đến độ đục của nước	Vệ sinh dụng cụ đựng mẫu chưa sạch	Vệ sinh dụng cụ đựng mẫu đúng phương pháp đã đề ra

3. Đánh giá mùi

3.1. Nguyên tắc thực hiện

Yêu cầu về mùi đối với nước dùng trong sản xuất thực phẩm là không có mùi lạ.

- *Dụng cụ cần chuẩn bị:*

+ Bình cầu đáy phẳng có nút mài, dung tích 250 – 350ml

+ Bình thủy tinh

+ Kính đồng hồ.

+ Bếp cách thủy



Hình 2.4. Bình cầu đáy bằng



Hình 2.5. Bình thủy tinh



Hình 2.6. Mặt kính đồng hồ



Hình 2.7. Bếp cách thủy

- *Phương pháp đánh giá:*

+ Xác định đặc tính của mùi qua cảm giác (mùi đất, mùi clo, mùi dầu...)

+ Xác định mùi ở 20°C: Lấy 100ml nước cần thử ở 20°C, cho vào bình cầu có nút mài dung tích 250 – 350ml. Dùng nút đậy bình cầu và lắc.

Ngay sau đó, mở nút ra và xác định đặc tính, mức độ của mùi.

+ Xác định mùi ở 60°C: Lấy 100ml nước cho vào bình cầu. Dùng kính đồng hồ đậy bình cầu và đun nóng trên bình cách thủy cho đến 50 – 60°C. Lắc đều bình.

Dịch kính đồng hồ về một bên và nhanh chóng xác định đặc tính và mức độ mùi.

+ Mức độ mùi của nước ở 20°C và 60°C được đánh giá theo hệ thống điểm năm và cho điểm theo quy định trong bảng 2.2.

Bảng 2.2. Đánh giá mức độ mùi của nước ở 20°C và 60°C

<i>Mức độ mùi</i>	<i>Đặc điểm của mùi</i>	<i>Đánh giá mức độ mùi (điểm)</i>
Không có gì	Bằng cảm giác không nhận thấy mùi	0
Mùi rất nhẹ	Người bình thường không nhận thấy, nhưng phát hiện được trong phòng thí nghiệm	1
Mùi nhẹ	Người bình thường, nếu chú ý, sẽ phát hiện được	2
Có mùi	Dễ nhận biết và gây cảm giác khó chịu	3
Có mùi rõ	Gây cảm giác khó chịu và lúc uống bị lợm giọng	4
Mùi rất rõ	Mạnh đến nỗi không thể uống được	5

3.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Chuẩn bị dụng cụ	- Bình cầu đáy phẳng có nút mài, dung tích 250 – 350ml - Bình thủy tinh - Kính đồng hồ.	Được làm sạch, khô ráo
2	Xác định mùi bằng cảm giác khi ngửi	Mẫu nước đựng bình thủy tinh	Ghi lại mùi được cảm nhận (mùi đất, mùi clo, mùi dầu...)
3	Xác định mùi ở 20°C	Bình cầu đáy phẳng có nút mài, dung tích 250 – 350ml, mẫu nước	Lắc mạnh mẫu nước ở 20°C, mở nút ra và xác định đặc tính, mức độ của mùi
4	Xác định mùi ở 60°C	- Bình cầu đáy phẳng có nút mài, dung tích 250 – 350ml - Bình thủy tinh - Kính đồng hồ.	Đun 100ml nước trong bình cầu đến nhiệt độ 50 – 60°C, đậy bằng mặt kính đồng hồ Lắc mạnh, dịch chuyển mặt kính đồng hồ và xác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
		- Mẫu nước	định đặc tính về mùi theo bảng 2.2.

3.3. Các chú ý về an toàn lao động

Khi sử dụng dụng cụ thủy tinh để chứa mẫu phải cẩn thận, tránh làm bể vỡ dụng cụ.

3.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Xác định mùi của mẫu nước không chính xác	Dụng cụ chứa đựng chưa được vệ sinh sạch sẽ	Vệ sinh dụng cụ đựng mẫu đúng phương pháp đã đề ra

4. Xác định vị

4.1. Nguyên tắc thực hiện

Yêu cầu về vị đối với nước dùng trong sản xuất thực phẩm là không có vị lạ.

Dùng phương pháp cảm quan để xác định vị của mẫu nước:

+ Dùng cảm giác đo vị và vị lạ (mặn, chua, kim loại v.v...) gây ra để xác định đặc tính của vị và vị lạ.

+ Cho một ít nước cần thử vào miệng, cho từng ít một, không uống và giữ trong miệng 3 – 5 giây, để nhận xét vị.

+ Mức độ vị và vị lạ ở 20⁰C đánh giá theo hệ thống điểm năm như quy định trong bảng 2.3.

Bảng 2.3. Đánh giá mức độ vị của nước ở 20⁰C

<i>Mức độ của vị và vị lạ</i>	<i>Đặc tính của vị và vị lạ</i>	<i>Đánh giá mức độ của vị và vị lạ (điểm)</i>
Không có gì	Bằng cảm giác không nhận thấy vị và vị lạ.	0
Vị rất nhẹ	Người bình thường không nhận thấy, nhưng phát hiện được trong phòng thí nghiệm	1
Vị nhẹ	Người bình thường, nếu chú ý, sẽ phát hiện được	2
Có vị	Dễ nhận biết và gây cảm giác khó chịu	3
Có vị rõ	Gây cảm giác khó chịu và lúc uống bị lợm giọng	4
Có vị rất rõ	Mạnh đến nỗi không thể uống được	5

4.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Xác định vị lạ bằng cảm giác khi nếm	Mẫu nước đựng trong cốc thủy tinh	Ghi lại vị được cảm nhận (mặn, chua, kim loại...)
2	Xác định vị ở 20 ⁰ C	Mẫu nước đựng trong cốc thủy tinh	Cho 1 ít nước thử vào miệng, giữ trong miệng 3 – 5 giây, nhận xét vị. Mức độ vị và vị lạ được đánh giá theo bảng 3.2

4.3. Các chú ý về an toàn lao động

Cẩn thận khi sử dụng các dụng cụ thủy tinh, tránh bể vỡ hoặc rơi vào chân gây nguy hiểm

4.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Xác định vị của mẫu nước không chính xác.	Dụng cụ chứa đựng chưa được vệ sinh sạch sẽ	Vệ sinh dụng cụ đựng mẫu đúng phương pháp đã đề ra

5. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ cảm quan

5.1. Phương pháp thực hiện

- Dụng cụ thủy tinh chứa mẫu như bình thủy tinh, bình cầu đáy bằng, mặt kính đồng hồ, chai thủy tinh: được rửa bằng xà phòng và dùng chổi để lấy chất bẩn trong dụng cụ, sau đó rửa sạch bằng nước máy, cuối cùng tráng qua nước cất. Sau đó, được sấy khô ở nhiệt độ 105⁰C, 1 giờ.

- Bếp cách thủy: tháo hết nước trong bếp, để bếp nguội, vệ sinh sạch sẽ bên trong và bên ngoài bếp.

5.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Vệ sinh dụng cụ thủy tinh	- Bình thủy tinh - Bình cầu đáy bằng - Mặt kính đồng hồ - Chai thủy tinh	Phải được rửa sạch, không còn sót mẫu. Dụng cụ thủy tinh phải được sấy khô (105⁰C, 1 giờ) Sắp xếp theo quy định

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
2	Vệ sinh bếp cách thủy	Bếp cách thủy	- Tháo hết nước - Bếp nguội - Vệ sinh sạch sẽ bên trong và ngoài bếp

5.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Cần thận tránh làm bể vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh.
- Sắp xếp các dụng cụ theo từng chủng loại riêng biệt.

5.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Các dụng cụ chưa được vệ sinh sạch sẽ	Vệ sinh không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật	Vệ sinh cách dụng cụ thủy tinh chứa mẫu đúng quy định.

6. Thực hành đánh giá chất lượng cảm quan nước dùng trong thực phẩm

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
1	Đánh giá màu sắc	Chai thủy tinh 1 lít	Nếu chưa kiểm tra màu ngay sau khi chuẩn bị mẫu thì phải bảo quản mẫu trong chỗ tối, điều kiện nhiệt độ phù hợp. - Đặt mẫu trên phong nền trắng để quan sát - Ghi lại nhận xét	Khi sử dụng chất tẩy rửa hoặc dùng dung dịch acid để vệ sinh dụng cụ cần phải có bảo hộ như găng tay, khẩu trang...
2	Đánh giá độ đục	Chai thủy tinh Máy đo độ đục Tài liệu hướng dẫn sử dụng máy đo độ đục	- Nếu chưa kiểm tra độ đục ngay sau khi chuẩn bị mẫu thì phải bảo quản mẫu trong chỗ tối, điều kiện nhiệt độ phù hợp. - Quan sát bằng mắt để kết luận về mức độ đục của mẫu nước. - Sử dụng máy đo độ	Sử dụng máy đo độ đục phải tuân theo hướng dẫn sử dụng

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
			đục để đánh giá độ đục của mẫu nước	
3	Đánh giá mùi	Bình cầu đáy phẳng có nút mài, dung tích 250 – 350ml + Bình thủy tinh + Kính đồng hồ.	- Ghi lại mùi được cảm nhận (mùi đất, mùi clo, mùi dầu...) - Lắc mạnh mẫu nước ở 20 ⁰ C, mở nút ra và xác định đặc tính, mức độ của mùi - Đun 100ml nước trong bình cầu đến nhiệt độ 50 – 60 ⁰ C, đáy bằng mặt kính đồng hồ Lắc mạnh, dịch chuyển mặt kính đồng hồ và xác định đặc tính về mùi	Khi sử dụng dụng cụ thủy tinh để chứa mẫu phải cẩn thận, tránh làm bể vỡ dụng cụ
4	Xác định vị	Cốc thủy tinh	Ghi lại vị được cảm nhận (mặn, chua, kim loại...) Cho 1 ít nước thử vào miệng, giữ trong miệng 3 – 5 giây, nhận xét vị.	
5	Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị	- Bình thủy tinh - Bình cầu đáy bằng - Mặt kính đồng hồ - Chai thủy tinh - Máy đo độ đục - Bếp cách thủy	- Các dụng cụ thủy tinh phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích, phải được sấy khô (105 ⁰ C, 1 giờ) - Bếp cách thủy và máy đo độ đục phải được vệ sinh sạch sẽ - Các máy, thiết bị được đặt đúng nơi quy định	- Tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh - Bếp cách thủy và máy đo độ đục phải được ngừng máy rồi mới được vệ sinh

Bài 3. XÁC ĐỊNH pH, ĐỘ KIỀM

Mục tiêu

- Trình bày được nguyên tắc của phương pháp chuẩn độ acid – base;
- Chuẩn bị được dụng cụ, thiết bị, hóa chất cần sử dụng để xác định pH, độ kiềm;
- Thao tác chuẩn độ thành thạo đảm bảo chính xác;
- Sử dụng thành thạo, an toàn máy đo pH, bộ dụng cụ chuẩn độ, hóa chất;
- Phát hiện được những nguyên nhân làm sai lệch kết quả phân tích;
- Tính toán được kết quả phân tích theo yêu cầu;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ đảm bảo độ an toàn và độ chính xác cao.
- Tuân thủ các qui tắc đảm bảo an toàn lao động trong phòng kiểm nghiệm.

1. Xác định pH

1.1. Nguyên tắc

Phương pháp điện thế xác định pH với điện cực thủy tinh dựa trên sự đo hiện điện thế xuất hiện trên bề mặt phân cách màng thủy tinh với dung dịch

1.2. Dụng cụ, hóa chất

+ Máy đo pH

+ Điện cực Calomen

+ Các dung dịch đệm có pH = 4 hoặc pH = 6,88 để chuẩn máy

1.3. Cách tiến hành

Dùng các dung dịch đệm có pH biết trước để chuẩn máy. Cho dung dịch mẫu cần đo vào cốc, nhúng ngập khoảng 1/3 đầu thủy tinh của điện cực. Bật máy, vừa đo, vừa khuấy điện cực, để pH không đổi trong khoảng 5 phút. Đọc trị số pH mẫu đo.

1.4. Kết quả

Trị số pH được đo trên máy

2. Xác định độ kiềm

2.1. Nguyên tắc của phương pháp chuẩn độ acid – base

Cho chỉ thị methyl orange vào mẫu nước, dung dịch có màu vàng cam. Chuẩn độ bằng dung dịch H_2SO_4 0.01N cho đến khi dung dịch trở thành màu đỏ cam (môi trường acid, pH khoảng 4.5). Khi đó tất cả các ion OH^- , CO_3^{2-} , HCO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} ... đã được trung hòa hoàn toàn. Vì vậy, phân tích với chỉ thị methyl orange chúng ta thu được kiềm tổng cộng.



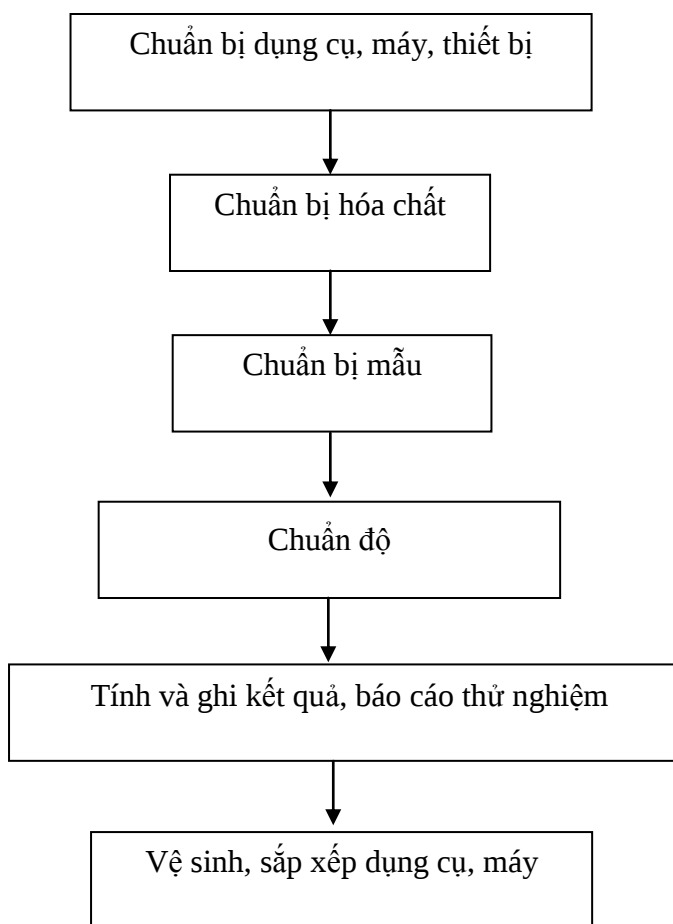
Độ kiềm của nước được biểu thị bằng mili đương lượng gam (meq) của axit HCl khi chuẩn độ.

Đối với nước tự nhiên độ kiềm tổng cộng (total alkalinity) thực tế trùng với độ cứng cacbonnat, bởi vậy trong tính toán người ta thường biểu thị đơn vị tính độ kiềm từ số mili đương lượng gam/lít thành mg CaCO₃/L, theo hệ số chuyển đổi:

$$1\text{meq/L} = 50\text{mg CaCO}_3/\text{L}$$

Quy trình xác định

Quy trình xác định độ kiềm trong nước bằng phương pháp chuẩn độ thể hiện như hình 3.1.



Hình 3.1. Quy trình xác định độ kiềm trong nước

2.2. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị

Dụng cụ, thiết bị

Các dụng cụ, thiết bị cần chuẩn bị:

- Bình định mức 100ml
- Cốc thủy tinh 100ml
- Bình nón 250ml
- Bóp cao su, pipet
- Bộ chuẩn độ: buret 25ml, bình nón, chân giá sắt, kẹp càng cua
- Bình tia, ống nhỏ giọt
- Cân phân tích

Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Chuẩn bị và kiểm tra các dụng cụ	- Bình định mức 100ml - Cốc thủy tinh 100ml - Bình nón 250ml - Bóp cao su, pipet - Bộ chuẩn độ: buret 25ml, bình nón, chân giá sắt, kẹp càng cua - Bình tia, ống nhỏ giọt	- Sạch sẽ, không có vết nứt, sử dụng tốt - Buret phải được rửa sạch và tráng kỹ bằng nước cất
2	Chuẩn bị cân phân tích	- Cân phân tích - Tài liệu kỹ thuật hướng dẫn	Cân phân tích phải được kiểm tra và trong tình trạng hoạt động tốt

Các chú ý về an toàn lao động

- Thao tác kiểm tra dụng cụ và thiết bị phải đúng theo hướng dẫn
- Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác.
- Chú ý về an toàn điện khi kiểm tra các thiết bị.

Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Bể vỡ dụng cụ	Để chung dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ, kim loại	Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ và kim loại khác
2	Cân phân tích: màn hình không hiện “0.0000g” khi khởi động cân	Do đặt cân không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật	Phải được kiểm tra và điều chỉnh theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật

2.3. Chuẩn bị hóa chất

Hóa chất

a. Các hóa chất cần chuẩn bị:

- Dung dịch H_2SO_4 0.01N
- Metyl da cam 0,1%
- Phenolphthalein 1%

b. Cách pha các dung dịch:

- Dung dịch H_2SO_4 0.01N: Cho 500ml nước cất vào bình định mức 1 lít, thêm từ từ 2,8 ml H_2SO_4 đậm đặc, vừa cho vừa lắc, để nguội, thêm nước cất đến vạch định mức
- Metyl da cam 0,1%: Hòa tan 0,1g metyl da cam trong 100ml nước cất nóng.
- Phenolphthalein 1%: Hòa tan 1g phenolphthalein trong 100ml cồn 96⁰.

c. Dụng cụ, thiết bị:



Hình 3.2. Bình định mức



Hình 3.3. Cốc thủy tinh



Hình 3.4. Đũa thủy tinh



Hình 3.5. Cân phân tích

- Bình định mức 1000ml, 100ml
- Cốc thủy tinh
- Đũa thủy tinh
- Cân phân tích
- Bếp điện

Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Kiểm tra hóa chất	- H_2SO_4 - Chỉ thị Metyl da cam - Chỉ thị Phenolphthalein	Hóa chất tinh khiết, còn nhãn, đúng tên gọi Hóa chất còn hạn sử dụng
2	Chuẩn bị dung dịch H_2SO_4 0,01N		

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
2.1	Lấy hóa chất	- Hóa chất H_2SO_4 đậm đặc - Bình định mức 1000ml - Pipet	Hút chính xác 2,8 ml H_2SO_4 đậm đặc cho vào bình định mức có sẵn 500ml nước cất Hóa chất H_2SO_4 không được đổ ra ngoài khi pha
2.2	Định mức	- Bình định mức 1000ml - Nước cất	Định mức đúng vạch Lắc đều
2.3	Cho dung dịch H_2SO_4 0,01N vào lọ chứa	- Dung dịch H_2SO_4 0,01N - Lọ chứa	Dung dịch H_2SO_4 0,01N sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
3	Chuẩn bị Metyl da cam 0,1%		
3.1	Cân hóa chất	- Hóa chất Metyl da cam tinh khiết - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất Metyl da cam được cân chính xác 0,1g(độ chính xác 10^{-4}g) Hóa chất Metyl da cam không được đổ ra ngoài khi pha
3.2	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh - Bếp điện	Metyl da cam phải được hòa tan hoàn toàn trong nước nóng khi pha
3.3	Định mức	- Bình định mức 100ml - Nước cất	Định mức phải đúng vạch Lắc đều
3.4	Cho dung dịch Metyl da cam 0,1% vào lọ chứa	- Dung dịch Metyl da cam 0,1% - Lọ chứa	Dung dịch Metyl da cam 0,1% sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
4	Chuẩn bị dung dịch Phenolphthalein 1%		
4.1	Cân hóa chất	- Hóa chất Phenolphthalein	Hóa chất Phenolphthalein được cân chính xác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
		tinh khiết - Cốc - Cân phân tích	0,1g(độ chính xác 10^{-4} g) Hóa chất Phenolphthalein không được đổ ra ngoài khi pha
4.2	Hòa tan hóa chất	- Cồn 96 ⁰ - Đũa thủy tinh - Bếp điện	Phenolphthalein phải được hòa tan hoàn toàn trong Cồn 96 ⁰ khi pha
4.3	Định mức	- Bình định mức 100ml - Nước cất	Định mức phải đúng vạch Lắc đều
4.4	Cho dung dịch Phenolphthalein 1% vào lọ chứa	- Dung dịch Phenolphthalein 1% - Lọ chứa	Dung dịch Phenolphthalein 1% sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
5	Vệ sinh dụng cụ, cân	- Dụng cụ thủy tinh - Cân phân tích	Các dụng cụ thủy tinh phải rửa sạch và sấy khô ở 105 ⁰ C, 1 giờ Cân phải được vệ sinh theo tài liệu hướng dẫn

Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất

- Cẩn thận khi tiếp xúc với H₂SO₄ đậm đặc
- Hóa chất pha xong phải đậy kín nút chai
- Đọc kỹ hướng dẫn sử dụng khi thao tác trên cân phân tích.

Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Nồng độ chất chuẩn H ₂ SO ₄ 0,01 N không đúng	- Cân không chính xác - Hóa chất chưa được hòa tan hoàn toàn - Định mức chưa đúng	- Vận hành cân theo đúng hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật - Cân chính xác lượng hóa chất đã tính toán trên

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
		- Hóa chất H_2SO_4 chưa tinh khiết - Lọ chứa chất chuẩn H_2SO_4 0,01 N chưa sạch	- cân phân tích - Để hóa chất H_2SO_4 rơi vãi ra ngoài khi hút - Định mức đúng vạch - Phải chuẩn lại nồng độ H_2SO_4 0,01 N vừa pha bằng $Na_2B_4O_7$. - Lọ chứa chất chuẩn H_2SO_4 0,01 N phải khô, sạch
2	Chỉ thị Metyl da cam không hòa tan hoàn toàn	Không dùng nước cất nóng để pha chỉ thị	Dùng nước cất nóng để pha chỉ thị
3	Chỉ thị Phenolphthalein không hòa tan khi pha	Dùng nước cất để pha chỉ thị. Phenolphthalein chỉ tan trong cồn	Dùng cồn 96 ⁰ để pha chỉ thị.

2.4. Chuẩn bị mẫu

Phương pháp chuẩn bị mẫu

Lấy mẫu nước theo quy định hiện hành. Chuẩn bị mẫu từ mẫu được bảo quản để xác định độ kiềm của nước.

Hút 100ml mẫu nước phân tích cho vào bình nón để chuẩn bị tiến hành trung hòa mẫu.

Đối với mẫu có những cặn lơ lửng, cần phải lọc loại bỏ trước khi hút mẫu.

Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Hút mẫu	Pipet, bình tam giác 250ml	Thể tích mẫu hút cho vào bình tam giác: 100ml

Các chú ý về an toàn lao động

Cẩn thận khi sử dụng dụng cụ thủy tinh tránh bể vỡ.

Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Mẫu hút không chính xác 100ml	Dùng ống đong 100ml để lấy mẫu	Hút bằng pipet hoặc dùng bình định mức 100ml để lấy chính xác lượng mẫu.

2.5. Chuẩn độ

Nguyên tắc thực hiện

Chuẩn độ dung dịch mẫu nước phân tích bằng dung dịch chuẩn H_2SO_4 0.01N, với chỉ thị Phenolphthalein và metyl da cam.

Điểm tương đương là thời điểm dung dịch xuất hiện màu đỏ cam.

Từ lượng H_2SO_4 0.01N tiêu tốn, có thể tính ra hàm lượng kiềm trong mẫu nước phân tích.

Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Chuẩn bị dung dịch H_2SO_4 0.01N trên buret	Buret, H_2SO_4 0.01N	Tráng rửa buret sạch sẽ, đuổi bọt khí, điều chỉnh H_2SO_4 0.01N về vạch 0
2	Chuẩn bị hóa chất trong bình nón	Bình nón 250ml, mẫu nước phân tích, Phenolphthalein 1%.	Thể tích các dung dịch: - Mẫu nước phân tích: 100ml - Phenolphthalein 1%: 3 giọt.
3	Chuẩn độ lần 1	Buret, H_2SO_4 0.01N Bình nón chứa các hóa chất trên	- Điểm kết thúc: dung dịch trong bình nón mất màu
4	Ghi lại số ml H_2SO_4 0.01N tiêu tốn	Bút, sổ ghi chép	Đọc kết quả chính xác 0,05 ml.
5	Thêm hóa chất vào bình nón	Bình nón 250ml đã chuẩn độ ở lần 1, methyl orange	Methyl orange 0,1%: 3 giọt.
6	Chuẩn độ lần 2	Buret, H_2SO_4 0.01N Bình nón chứa các hóa chất trên	- Điểm kết thúc: dung dịch trong bình nón chuyển sang màu đỏ cam.
7	Ghi lại số ml H_2SO_4 0.01N tiêu tốn	Bút, sổ ghi chép	Đọc kết quả chính xác 0,05 ml.
8	Lặp lại toàn bộ thí nghiệm 3 lần	Buret, H_2SO_4 0.01N Bình nón chứa các hóa chất trên	Đọc kết quả chính xác 0,05 ml. - Lấy kết quả thể tích H_2SO_4 0.01N trung bình của 3 lần chuẩn độ

Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định về an toàn lao động khi sử dụng hóa chất.
- Thao tác chuẩn độ thành thạo

Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Khó xác định điểm tương đương	Do cho hai chỉ thị phenolphthalein và metyl da cam vào cùng một lúc	Cho chỉ thị phenolphthalein vào trước, chuẩn độ đến mất màu mới cho metyl da cam vào

2.6. Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm

Công thức tính toán

Độ kiềm của nước được biểu thị bằng mili đương lượng gam (meq) của acid H_2SO_4 khi chuẩn độ.

Đối với nước tự nhiên độ kiềm tổng cộng thực tế trùng với độ cứng cacbonnat, bởi vậy trong tính toán người ta thường biểu thị đơn vị tính độ kiềm từ số mili đương lượng gam/lít thành mg $CaCO_3$ /L, theo hệ số chuyển đổi:

$$1\text{meq/L} = 50\text{mg } CaCO_3 /L$$

$$\text{Độ kiềm tổng cộng (mg/ } CaCO_3/L) = \frac{V * N}{V_m} * 50 * 1000$$

Trong đó:

$V=V_1 + V_2$: số mL dung dịch H_2SO_4 0.01N tiêu tốn khi chuẩn độ

N: nồng độ dung dịch H_2SO_4 0.01N

V_m : thể tích mẫu nước lấy để phân tích

1000: hệ số đổi thành lít

50: hệ số chuyển đổi từ meq thành mg $CaCO_3$

Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Tính kết quả	Sổ ghi chép, máy tính	- Tính đúng công thức - Kết quả tính theo meq/l, được làm tròn đến số lẻ thập phân thứ nhất.
2	Ghi kết quả vào phiếu	- Phiếu kết quả	Ghi chính xác kết quả

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
	và sổ lưu	- Sổ lưu	
3	Báo cáo thử nghiệm	- Mẫu Báo cáo	Báo cáo phải được ghi đầy đủ về: - Phương pháp thử nghiệm - Dụng cụ, thiết bị, hóa chất thử nghiệm - Phương pháp chuẩn bị mẫu - Cách tiến hành - Kết quả thử tích H_2SO_4 0,01N tiêu tốn - Kết quả độ kiềm của mẫu nước phân tích - Phân tích các nguyên nhân gây sai số trong quá trình xác định và cách khắc phục.

Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Kết quả độ kiềm của nước không chính xác	Áp dụng chưa đúng công thức tính toán	Kiểm tra công thức và kết quả tính toán

2.7. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị

Nguyên tắc thực hiện

a. Phương pháp vệ sinh dụng cụ thủy tinh:

Dụng cụ được rửa bằng xà phòng và dùng chổi để lấy chất bẩn trong dụng cụ, sau đó rửa sạch bằng nước máy, cuối cùng tráng qua nước cất. Sau đó, được sấy khô ở nhiệt độ $105^{\circ}C$, 1 giờ.

Đối với hệ thống chung cất, cần làm nguội rồi mới tháo rời các chi tiết để vệ sinh.

b. Phương pháp vệ sinh cân phân tích:

Dùng giấy mềm thấm lau sạch bề mặt cân và xung quang khu vực cân (theo tài liệu kỹ thuật)

Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
------------	-------------------------	----------------------------------	-------------------------

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Vệ sinh dụng cụ	- Bình định mức 100ml - Cốc thủy tinh 100ml - Bình nón 250ml - Bóp cao su, pipet - Bộ chuẩn độ: buret 25ml, bình nón, chân giá sắt, kẹp càng cua - Bình tia, ống nhỏ giọt	Phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích. Dụng cụ thủy tinh phải được sấy khô (105⁰C, 1 giờ) Sắp xếp theo quy định
3	Vệ sinh, sắp xếp máy, thiết bị	- Tủ sấy - Cân phân tích	Các bộ phận của thiết bị phải sạch, không được bám mẫu phân tích. Các máy, thiết bị được đặt đúng nơi quy định.

Các chú ý về an toàn lao động

- Cần thận tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh.
- Cân phân tích phải được ngừng máy, rút dây nguồn, rồi mới được vệ sinh.

Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Cân bị lỗi	Tắt máy không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Vệ sinh khi chưa tắt cân	Tắt cân theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Phải tắt cân rồi mới được vệ sinh
2	Buret bẩn	Buret chưa được vệ sinh, vẫn còn chứa hóa chất	Đổ hóa chất chuẩn về lại bình chứa. Rửa sạch buret và tráng lại bằng nước cất, treo ngược lên trên giá sắt cho ráo nước.

2.8. Một số nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Cân bị lỗi	Tắt máy không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật	Tắt cân theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Phải tắt cân rồi mới được

		Vệ sinh khi chưa tắt cân	vệ sinh
2	Buret bẩn	Buret chưa được vệ sinh, vẫn còn chứa hóa chất	Đổ hóa chất chuẩn về lại bình chứa. Rửa sạch buret và tráng lại bằng nước cất, treo ngược lên trên giá sắt cho ráo nước.
3	Nồng độ chất chuẩn H_2SO_4 0,01 N không đúng	- Cân không chính xác - Hóa chất chưa được hòa tan hoàn toàn - Định mức chưa đúng - Hóa chất H_2SO_4 chưa tinh khiết - Lọ chứa chất chuẩn H_2SO_4 0,01 N chưa sạch	- Vận hành cân theo đúng hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật - Cân chính xác lượng hóa chất đã tính toán trên cân phân tích - Đổ hóa chất H_2SO_4 rơi vãi ra ngoài khi hút - Định mức đúng vạch - Phải chuẩn lại nồng độ H_2SO_4 0,01 N vừa pha bằng $Na_2B_4O_7$. - Lọ chứa chất chuẩn H_2SO_4 0,01 N phải khô, sạch
4	Chỉ thị Metyl da cam không hòa tan hoàn toàn	Không dùng nước cất nóng để pha chỉ thị	Dùng nước cất nóng để pha chỉ thị
5	Chỉ thị Phenolphthalein không hòa tan khi pha	Dùng nước cất để pha chỉ thị. Phenolphthalein chỉ tan trong cồn	Dùng cồn 96 ⁰ để pha chỉ thị.
6	Khó xác định điểm tương đương	Do cho hai chỉ thị phenolphthalein và metyl da cam vào cùng một lúc	Cho chỉ thị phenolphthalein vào trước, chuẩn độ đến mất màu mới cho metyl da cam vào
7	Kết quả độ kiềm của nước không chính xác	Áp dụng chưa đúng công thức tính toán	Kiểm tra công thức và kết quả tính toán

3. Thực hành xác định pH, độ kiềm

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
-----	------------------------	---------------------------	------------------	-------------------------------

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
1	Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị	- Bình định mức 100ml - Cốc thủy tinh 100ml - Bình nón 250ml - Bóp cao su, pipet - Bộ chuẩn độ: buret 25ml, bình nón, chân giá sắt, kẹp càng cua - Bình tia, ống nhỏ giọt	- Dụng cụ sạch, khô và không có vết nứt. - Thiết bị phải được kiểm tra và trong tình trạng hoạt động tốt	- Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác.
2	Chuẩn bị hóa chất Pha các dung dịch: - Dung dịch H_2SO_4 0.01N - Metyl da cam 0,1% - Phenolphthalein 1%	Bình định mức, cốc thủy tinh, đĩa thủy tinh; cân phân tích, H_2SO_4 , Metyl da cam, Phenolphthalein, nước cất	- Hóa chất tinh khiết, còn nhãn, đúng tên gọi - Hóa chất còn hạn sử dụng - Các hóa chất pha đúng nồng độ quy định	- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất
3	Chuẩn bị mẫu	Pipet, bình tam giác 250ml	Thẻ tích mẫu hút cho vào bình tam giác: 100ml	- Cẩn thận khi sử dụng dụng cụ thủy tinh tránh bể vỡ.
4	Chuẩn độ	Buret, H_2SO_4 0.01N Bình nón 250ml, mẫu nước phân tích, Phenolphthalein 1% Metyl đỏ 0,1%.	Tráng rửa buret sạch sẽ, đuổi bọt khí, điều chỉnh H_2SO_4 0.01N về vạch 0 - Điểm tương đương: xuất hiện Có màu hồng nhạt bền vững. - Đọc kết quả chính	- Tránh để dung dịch H_2SO_4 0,1N rơi vãi ra ngoài, vì dung dịch này tạo màu rất khó vệ sinh. - Thao tác chuẩn độ thành

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
			xác 0,05 ml	thạo
5	Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm	Sổ ghi chép, máy tính - Phiếu kết quả - Sổ lưu	- Tính đúng công thức - Kết quả tính theo %, được làm tròn đến số lẻ thập phân thứ nhất.	
6	Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị	Dụng cụ thủy tinh Cân phân tích	- Các dụng cụ thủy tinh phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích, phải được sấy khô (105 ⁰ C, 1 giờ) Các máy, thiết bị được đặt đúng nơi quy định	- Tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh - Cân phân tích phải được ngừng máy rồi mới được vệ sinh.

Bài 4. XÁC ĐỊNH ĐỘ CỨNG CỦA NƯỚC

Mục tiêu

- Trình bày được nguyên tắc của phương pháp chuẩn độ phức chất;
- Chuẩn bị được dụng cụ, thiết bị, hóa chất cần sử dụng để xác định độ cứng của nước;
- Thao tác chuẩn độ thành thạo đảm bảo chính xác;
- Sử dụng thành thạo và an toàn bộ dụng cụ chuẩn độ, hóa chất;
- Phát hiện được những nguyên nhân làm sai lệch kết quả phân tích;
- Tính toán được kết quả phân tích theo yêu cầu;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh trong phòng kiểm nghiệm;
- Tuân thủ các qui tắc đảm bảo an toàn lao động trong phòng kiểm nghiệm.

Giới thiệu về độ cứng của nước

Độ cứng của nước gây ra bởi sự có mặt của các muối Ca và Mg trong nước. Độ cứng của nước được gọi là tạm thời khi có mặt muối cacbonat hoặc bicacbonat Ca, Mg. Loại nước này khi đun sôi sẽ tạo ra các kết tủa CaCO_3 hoặc MgCO_3 . Độ cứng vĩnh cửu của nước do các loại muối sunfat hoặc clorua Ca, Mg tạo ra. Độ cứng vĩnh cửu của nước thường rất khó xử lý và tạo ra nhiều hậu quả kinh tế cho việc sử dụng chúng.

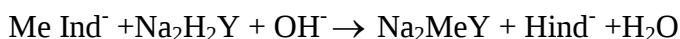
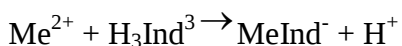
Độ cứng tổng cộng được xác định bằng tổng hàm lượng calci và magies.

Trong sản xuất thực phẩm, quy định độ cứng của nước không quá 350 mg/l.

Nguyên tắc xác định độ cứng của nước

Dựa vào phản ứng tạo phức bền giữa ion Ca^{2+} , Mg^{2+} trong nước với dung dịch Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA, TrilonB) trong môi trường kiềm ($\text{pH}=9,5 \div 10$), với Eriochrom Black T (EBT) làm chất chỉ thị.

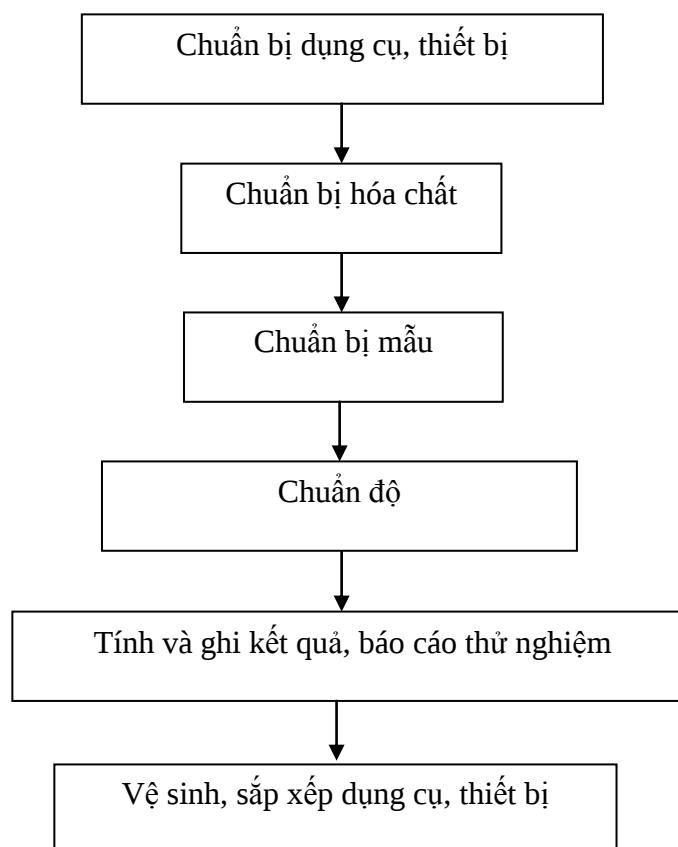
Tóm tắt phương trình phản ứng:



Trong quá trình chuẩn độ, EDTA trước hết phản ứng với các ion canxi và magiê tự do, sau đó ở điểm tương đương phản ứng với các ion canxi và magiê đã liên kết với chất chỉ thị giải phóng chỉ thị và làm màu dung dịch đổi từ đỏ sang xanh lam.

Quy trình xác định

Quy trình xác định độ cứng của nước bằng phương pháp chuẩn độ EDTA thể hiện như hình 4.1.



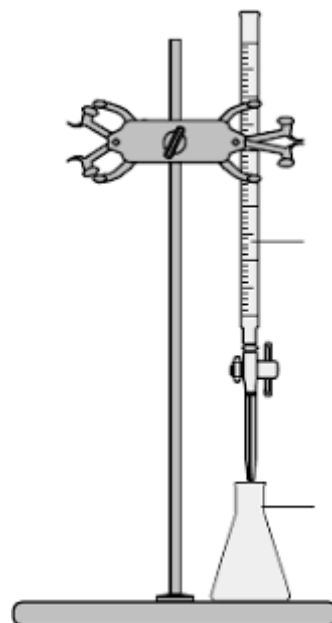
Hình 4.1. Quy trình xác định độ cứng của nước

1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị

1.1. Dụng cụ, thiết bị

Các dụng cụ, thiết bị cần chuẩn bị:

- Chân giá sắt
- Kẹp cồng cua
- Buret 25ml
- Bình nón 250ml
- Cốc thủy tinh 250ml
- Phễu thủy tinh $\phi = 3-4\text{cm}$
- Pipet 10ml- 50ml
- Quả bóp cao su
- Ống nhỏ giọt
- Cân phân tích



Hình 4.2. Bộ chuẩn độ

1.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Chuẩn bị và kiểm tra các dụng cụ	- Chân giá sắt - Kẹp cồng cua - Bình nón 250ml - Cốc thủy tinh 250ml - Phễu thủy tinh $\phi = 3-4\text{cm}$ - Pipet 10ml- 50ml - Quả bóp cao su - Ống nhỏ giọt	- Sạch sẽ, không có vết nứt, sử dụng tốt - Rây: kích thước mắt 1mm - Cốc đốt dung tích $25 \div 50$ ml, có thiết bị lọc phù hợp cho việc tách và đốt
2	Kiểm tra buret	- Buret 25ml - Tài liệu kỹ thuật hướng dẫn	- Buret phải sạch sẽ, không bám hóa chất - Khóa của buret phải trơn, dễ dàng sử dụng
3	Kiểm tra cân phân tích	- Cân phân tích - Tài liệu kỹ thuật hướng dẫn	Cân phân tích phải được kiểm tra và trong tình trạng hoạt động tốt

1.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Thao tác kiểm tra dụng cụ và thiết bị phải đúng theo hướng dẫn.
- Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác.
- Chú ý về an toàn điện khi kiểm tra các thiết bị.

1.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Bể vỡ dụng cụ	Để chung dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ, kim loại	Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ và kim loại khác
2	Cân phân tích: màn hình không hiện “0.0000g” khi khởi động cân	Do đặt cân không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật	Phải được kiểm tra và điều chỉnh theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật
3	Khóa của buret bị cứng	Do buret để lâu ngày không sử dụng hoặc không vệ sinh.	Vệ sinh sạch chỗ khóa, bôi vaseline vào chỗ khóa tiếp xúc.

2. Chuẩn bị hóa chất

2.1. Hóa chất

a. Hóa chất cần chuẩn bị:

- Dung dịch EDTA 0,1N
- Dung dịch đệm $\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4\text{Cl}$
- Dung dịch KCN 10%
- Dung dịch chỉ thị EBT 1%
- Nước cất

b. Cách pha các dung dịch:

- Dung dịch EDTA 0,1N: Cân 18,6g EDTA cho vào cốc 250ml, hòa tan bằng nước cất, chuyển vào bình định mức 1000ml, định mức tới vạch.

Dung dịch chuẩn EDTA được hiệu chuẩn lại nồng độ bằng CaCO_3 .

- Dung dịch đệm $\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4\text{Cl}$: Cân 9,14g NH_4Cl hoà tan trong 500ml nước cất và hút 80ml NH_4OH 25%, định mức bằng nước cất đến 1000ml.

- Dung dịch KCN 1%: Cân 1g KCN pha trong 100ml nước cất

- Dung dịch chỉ thị EBT 1%: Hòa tan 1g EBT bằng nước cất, thêm 1ml Na_2CO_3 1N, định mức 100ml, thêm một ít isopropyl alcol để bảo quản.

c. Dụng cụ, thiết bị:

- Bình định mức 1000ml, 100ml
- Cốc thủy tinh
- Đũa thủy tinh
- Cân phân tích



Hình 4.3. Bình định mức



Hình 4.4. Cốc thủy tinh



Hình 4.5. Đũa thủy tinh



Hình 4.6. Cân phân tích

2.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Kiểm tra hóa chất	- EDTA - NH_4OH - NH_4Cl - KCN - EBT - Nước cất.	Hóa chất tinh khiết, còn nhãn, đúng tên gọi Hóa chất còn hạn sử dụng
2	Chuẩn bị dung dịch chuẩn độ EDTA 0,1N		
2.1	Cân hóa chất EDTA từ lọ hóa chất tinh khiết	- EDTA tinh khiết - Cân phân tích - Cốc 250ml	Hóa chất EDTA không được rơi vãi ra ngoài khi cho vào cốc. Cân chính xác 18,6 g EDTA (sai số 10^{-4}g), EDTA không được rơi vãi khi cân
2.2	Hoà tan EDTA	- Nước cất - Đũa thủy tinh	EDTA phải được hòa tan hoàn toàn bằng nước cất
2.3	Định mức	- Bình định mức 1 lít - Nước cất	Định mức phải đúng vạch Lắc đều
2.4	Định chuẩn dung dịch EDTA 0,1N	- CaCO_3 - Phenolphthalein 1%	Dung dịch EDTA 0,1N pha từ hóa chất tinh khiết phải được kiểm tra lại nồng độ bằng CaCO_3 .

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
2.5	Cho dung dịch EDTA 0,1N vào lọ chứa	- EDTA 0,1N vừa pha - Lọ chứa - Nhãn dán	Dung dịch EDTA 0,1N sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha).
3	Chuẩn bị dung dịch NH_4OH 25%		
3.1	Lấy hóa chất	- NH_4OH đậm đặc - Nước cất - Pipet - Bình định mức 100ml	Bình định mức được cho vào 50ml nước cất Hóa chất NH_4OH đậm đặc không được đổ ra ngoài khi lấy. Hút chính xác 25ml NH_4OH đậm đặc cho vào bình định mức
3.2	Định mức	- Nước cất - Bình định mức 100ml	Định mức phải đúng vạch
3.3	Cho NH_4OH 25% vào lọ chứa	- Dung dịch NH_4OH 25%	Dung dịch NH_4OH 25% sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha).
4	Chuẩn bị dung dịch đậm $\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4\text{Cl}$		
4.1	Cân hóa chất	- NH_4Cl - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất NH_4Cl được cân chính xác 9,14g (độ chính xác 10^{-4} g) Hóa chất NH_4Cl không được đổ ra ngoài khi pha
4.2	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh	NH_4Cl phải được hòa tan hoàn toàn trong 500ml nước cất
4.3	Thêm NH_4OH 25%	- NH_4OH 25%	Thêm 80ml NH_4OH 25% vào cốc trên
4.4	Định mức	- Bình định mức 1000ml - Nước cất	Định mức phải đúng vạch

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			Lắc đều
4.5	Cho dung dịch đậm NH_4OH / NH_4Cl vào lọ chứa	- Dung dịch đậm NH_4OH / NH_4Cl - Lọ chứa	Dung dịch đậm NH_4OH / NH_4Cl sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
5	Chuẩn bị dung dịch KCN 1%		
5.1	Cân hóa chất KCN từ lọ hóa chất tinh khiết	- KCN tinh khiết - Cân phân tích - Cốc 100ml	Hóa chất KCN không được rơi vãi ra ngoài khi cho vào cốc. Cân chính xác 1 g KCN (sai số 10^{-4}g), KCN không được rơi vãi khi cân
5.2	Hoà tan KCN	- Nước cất - Đũa thủy tinh	KCN phải được hòa tan hoàn toàn bằng nước cất
5.3	Định mức	- Bình định mức 100ml - Nước cất	Định mức phải đúng vạch Lắc đều
5.4	Cho dung dịch KCN 1% vào lọ chứa	- KCN 1% vừa pha - Lọ chứa - Nhãn dán	Dung dịch KCN 1% sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
6	Chuẩn bị dung dịch EBT 1%		
6.1	Cân hóa chất EBT từ lọ hóa chất tinh khiết	- EBT tinh khiết - Cân phân tích - Cốc 100ml	Hóa chất EBT không được rơi vãi ra ngoài khi cho vào cốc. Cân chính xác 1 g EBT (sai số 10^{-4}g), EBT không được rơi vãi khi cân
6.2	Hòa tan EBT	- Nước cất	EBT phải được hòa tan hoàn toàn bằng nước cất

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
		- Đũa thủy tinh	
6.3	Thêm Na ₂ CO ₃ 1N	- Na ₂ CO ₃ 1N	Thêm 1ml Na ₂ CO ₃ 1N
6.4	Định mức	- Bình định mức 100ml - Nước cất	Định mức phải đúng vạch Lắc đều
6.5	Cho dung dịch EBT 1% vào lọ chứa	- EBT 1% vừa pha - Isopropyl alcol - Lọ chứa - Nhãn dán	Dung dịch EBT 1% sau khi pha, cho thêm 1 ít isopropyl alcol, được cho vào lọ khô sạch có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
7	Vệ sinh dụng cụ, cân	- Dụng cụ thủy tinh - Cân phân tích	Các dụng cụ thủy tinh phải rửa sạch và sấy khô ở 105 ⁰ C, 1 giờ Cân phải được vệ sinh theo tài liệu hướng dẫn

2.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất.

- Các dụng cụ: bình định mức, cốc, đũa đều bằng thủy tinh nên cẩn thận tránh rớt, vỡ khi sử dụng.

- Đọc kỹ hướng dẫn sử dụng khi thao tác trên cân phân tích.

2.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Nồng độ chất chuẩn EDTA bị sai lệch	- Cân, hút không chính xác - Hóa chất chưa được hòa tan hoàn toàn - Định mức chưa đúng - Hóa chất chưa tinh khiết - Lọ chứa chất chuẩn chưa sạch	- Vận hành cân theo đúng hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật - Cân chính xác lượng hóa chất đã tính toán trên cân phân tích - Thao tác sử dụng pipet thành thạo - Định mức đúng vạch

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
			- Phải hiệu chỉnh lại nồng độ nếu nồng độ không chính xác - Lọ chứa hóa chất phải khô, sạch.

3. Chuẩn bị mẫu

3.1. Phương pháp chuẩn bị mẫu

Lấy mẫu nước theo quy định hiện hành. Chuẩn bị mẫu từ mẫu được bảo quản để xác định độ cứng của nước.

Hút 100ml mẫu nước phân tích cho vào bình nón để chuẩn bị tiến hành chuẩn độ.

Đối với mẫu có những cặn lơ lửng, cần phải lọc loại bỏ trước khi hút mẫu.

3.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Lọc cặn lơ lửng	- Phễu thủy tinh - Giấy lọc	Lọc loại bỏ phần cặn lơ lửng
2	Hút mẫu nước	- Pipet - Quả bóp cao su - Bình tam giác 250ml	Hút chính xác thể tích 100ml mẫu nước cần phân tích Không để cho mẫu phân tích rơi vãi ra ngoài.

3.3. Các chú ý về an toàn lao động

Thao tác sử dụng dụng cụ thủy tinh phải thành thạo, tránh rơi, đổ, vỡ.

3.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Thể tích mẫu nước cần hút không chính xác.	- Thao tác hút bằng pipet chưa chính xác - Dùng ống đong để đong 100ml	- Không dùng ống đong để lấy mẫu nước vì ống đong có độ chính xác không cao. - Có thể sử dụng bình định mức 100ml để lấy mẫu nước thay vì dùng pipet để hút nhiều lần.

4. Chuẩn độ

4.1. Nguyên tắc thực hiện

Dùng chất chuẩn Ethylenediaminetetra acetic acid (EDTA, TrilonB) để chuẩn độ lượng ion Ca^{2+} , Mg^{2+} trong mẫu nước với Eriochrom Black T (EBT) làm chất chỉ thị.

Điều kiện trong môi trường kiềm ($\text{pH}=9,5 \div 10$)

Điểm tương đương là thời điểm chất chỉ thị được giải phóng và làm màu dung dịch đổi từ đỏ sang xanh lam.

4.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Chuẩn bị buret	Buret, nước cất	Tráng rửa buret sạch sẽ bằng nước cất
2	Chuẩn bị dung dịch EDTA 0,1N trên buret	Buret, EDTA 0,1 N	Tráng lại buret bằng dung dịch EDTA, đuổi bọt khí, điều chỉnh EDTA 0,1N về vạch 0
3	Chuẩn bị hóa chất trong bình nón	Bình nón 250ml, dung dịch đậm $\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4\text{Cl}$, dung dịch KCN 1%, dung dịch chỉ thị EBT 1%.	Hút chính xác thể tích các dung dịch: - Mẫu nước phân tích: 100ml - Dung dịch đậm $\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4\text{Cl}$: 10ml - Chỉ thị EBT 1%: 2 giọt - KCN 1%: 5 giọt
4	Chuẩn độ	Buret, EDTA 0,1 N Bình nón chứa các hóa chất trên	- Điểm tương đương: dung dịch trong bình nón chuyển sang màu xanh lam - Hoàn tất định phân trong vòng 5 phút
5	Ghi lại số ml EDTA 0,1N tiêu tốn	Bút, sổ ghi chép	Đọc kết quả chính xác 0,05 ml.
6	Lặp lại thí nghiệm chuẩn độ 3 lần	Buret, EDTA 0,1 N Bình nón chứa các hóa chất trên	Đọc kết quả chính xác 0,05 ml. - Lấy kết quả thể tích EDTA trung bình của 3 lần chuẩn độ

4.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định về an toàn lao động khi sử dụng hóa chất.
- Thao tác chuẩn độ thành thạo

4.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Chỉ thị màu bị phân hủy	Chuẩn độ ở nhiệt độ cao	Khi mẫu có nhiệt độ cao, cần hạ nhiệt độ trước khi tiến hành chuẩn độ.
2	Tạo kết tủa CaCO_3 trong quá trình chuẩn độ	Khi thêm dung dịch đệm vào làm pH của dung dịch tăng	- Pha loãng mẫu bằng nước cất - Dùng phương pháp định phân sơ bộ - Axit hóa mẫu và khuấy trong vòng 2 phút để đuổi CO_2 trước khi chỉnh pH. Xác định độ kiềm sau mỗi lần thêm acid.

5. Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm

5.1. Công thức tính kết quả

Độ cứng tổng cộng được xác định bằng tổng hàm lượng calci, magie và được biểu thị bằng mg CaCO_3/l .

Ta có: 1ml EDTA 0,1N tương ứng 50 mg CaCO_3

$$X = \frac{V_{\text{EDTA}} \cdot 50.1000}{V_{\text{mẫu}}} [\text{mg CaCO}_3/\text{l}]$$

5.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Tính kết quả	Sổ ghi chép, máy tính	- Tính đúng công thức - Kết quả tính theo mg CaCO_3/l, được làm tròn đến số lẻ thập phân thứ nhất.
2	Ghi kết quả vào phiếu và sổ lưu	- Phiếu kết quả - Sổ lưu	Ghi chính xác kết quả
3	Báo cáo thử nghiệm	- Mẫu Báo cáo	Báo cáo phải được ghi đầy đủ về:

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			- Phương pháp thử nghiệm - Dụng cụ, thiết bị, hóa chất thử nghiệm - Phương pháp chuẩn bị mẫu - Cách tiến hành - Kết quả thể tích chất chuẩn EDTA - Kết quả độ cứng của mẫu nước phân tích - Phân tích các nguyên nhân gây sai số trong quá trình xác định và cách khắc phục.

5.3. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Kết quả xác định độ cứng của nước không chính xác	- Áp dụng chưa đúng công thức tính toán	Kiểm tra công thức và kết quả tính toán

6. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị

6.1. Nguyên tắc thực hiện

a. Phương pháp vệ sinh dụng cụ:

Dụng cụ chủ yếu là thủy tinh, được rửa bằng xà phòng và dùng chổi để lấy chất bẩn trong dụng cụ, sau đó rửa sạch bằng nước máy, cuối cùng tráng qua nước cất. Sau đó, được sấy khô ở nhiệt độ 105⁰C, 1 giờ.

b. Phương pháp vệ sinh các thiết bị:

- Cân phân tích: Dùng giấy mềm thấm lau sạch bề mặt cân và xung quang khu vực cân (theo tài liệu kỹ thuật).

- Tủ sấy: Vệ sinh sạch bên trong và ngoài máy sau khi tắt máy làm nguội.

6.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
------------	-------------------------	----------------------------------	-------------------------

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Vệ sinh dụng cụ thủy tinh	Bình định mức 100ml; pipet 1m, 2ml, 10ml; ống đong, ống nghiệm	Phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích. Dụng cụ thủy tinh phải được sấy khô (105 ⁰ C, 1 giờ) Sắp xếp theo quy định
3	Vệ sinh, sắp xếp máy, thiết bị	- Tủ sấy - Cân phân tích	Các bộ phận của thiết bị phải sạch, không được bám mẫu phân tích. Các máy, thiết bị được đặt đúng nơi quy định.

6.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Cần thận tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh.
- Bếp điện, quang phổ kế phải được ngừng máy, rút dây nguồn, rồi mới được vệ sinh.
- Chú ý an toàn điện khi vệ sinh bếp điện, máy so màu không để dây điện ướt, tay ướt chạm vào ổ điện, phích điện.

6.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Cân bị lỗi	Tắt máy không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Vệ sinh khi chưa tắt cân	Tắt cân theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Phải tắt cân rồi mới được vệ sinh
2	Buret bẩn	Buret chưa được vệ sinh, vẫn còn chứa hóa chất EDTA	Đổ EDTA về lại bình chứa. Rửa sạch buret và tráng lại bằng nước cất, treo ngược lên trên giá sắt cho ráo nước.

7. Một số nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Cân bị lỗi	Tắt máy không đúng	Tắt cân theo hướng dẫn

		theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Vệ sinh khi chưa tắt cân	của tài liệu kỹ thuật Phải tắt cân rồi mới được vệ sinh
2	Buret bản	Buret chưa được vệ sinh, vẫn còn chứa hóa chất EDTA	Đổ EDTA về lại bình chứa. Rửa sạch buret và tráng lại bằng nước cất, treo ngược lên trên giá sắt cho ráo nước.
3	Bể vỡ dụng cụ	Đề chung dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ, kim loại	Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ và kim loại khác
4	Cân phân tích: màn hình không hiện “0.0000g” khi khởi động cân	Do đặt cân không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật	Phải được kiểm tra và điều chỉnh theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật
5	Khóa của buret bị cứng	Do buret để lâu ngày không sử dụng hoặc không vệ sinh.	Vệ sinh sạch chỗ khóa, bôi vaseline vào chỗ khóa tiếp xúc.
6	Nồng độ chất chuẩn EDTA bị sai lệch	- Cân, hút không chính xác - Hóa chất chưa được hòa tan hoàn toàn - Định mức chưa đúng - Hóa chất chưa tinh khiết - Lọ chứa chất chuẩn chưa sạch	- Vận hành cân theo đúng hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật - Cân chính xác lượng hóa chất đã tính toán trên cân phân tích - Thao tác sử dụng pipet thành thạo - Định mức đúng vạch - Phải hiệu chỉnh lại nồng độ nếu nồng độ không chính xác - Lọ chứa hóa chất phải khô, sạch.
7	Thẻ tích mẫu nước cần hút không chính xác.	- Thao tác hút bằng pipet chưa chính xác - Dùng ống đong để đong 100ml	- Không dùng ống đong để lấy mẫu nước vì ống đong có độ chính xác không cao. - Có thể sử dụng bình định mức 100ml để lấy mẫu nước thay vì dùng pipet để

			hút nhiều lần.
8	Chỉ thị màu bị phân hủy	Chuẩn độ ở nhiệt độ cao	Khi mẫu có nhiệt độ cao, cần hạ nhiệt độ trước khi tiến hành chuẩn độ.
9	Tạo kết tủa CaCO_3 trong quá trình chuẩn độ	Khi thêm dung dịch đệm vào làm pH của dung dịch tăng	- Pha loãng mẫu bằng nước cất - Dùng phương pháp định phân sơ bộ - Axit hóa mẫu và khuấy trong vòng 2 phút để đuổi CO_2 trước khi chỉnh pH. Xác định độ kiềm sau mỗi lần thêm acid.
10	Kết quả xác định độ cứng của nước không chính xác	- Áp dụng chưa đúng công thức tính toán	Kiểm tra công thức và kết quả tính toán

8. Thực hành xác định độ cứng của nước

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
1	Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị	- Chân giá sắt - Kẹp càng cua - Bình nón 250ml - Cốc thủy tinh 250ml - Phễu thủy tinh $\phi = 3-4\text{cm}$ - Pipet 10ml- 50ml - Quả bóp cao su - Ống nhỏ giọt - Buret 25ml - Cân phân tích - Tủ sấy	- Dụng cụ sạch, khô và không có vết nứt. - Thiết bị phải được kiểm tra và trong tình trạng hoạt động tốt	- Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác - Chú ý về an toàn điện khi kiểm tra các thiết bị.
2	Chuẩn bị hóa chất Pha hóa chất	Bình định mức, cốc thủy tinh, đĩa thủy tinh; cân phân tích, EDTA, NH_4OH , NH_4Cl , KCN,	- Hóa chất tinh khiết, còn nhãn, đúng tên gọi - Hóa chất còn hạn sử dụng	- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
		EBT, nước cất	- Các hóa chất pha đúng nồng độ quy định	xúc với hóa chất - Đọc kỹ hướng dẫn sử dụng khi thao tác trên cân phân tích
3	Chuẩn bị mẫu	- Phễu thủy tinh - Giấy lọc - Pipet - Quả bóp cao su - Bình tam giác 250ml	Lọc loại bỏ phần cặn lơ lửng Hút chính xác thể tích 100ml mẫu nước cần phân tích Không để cho mẫu phân tích rơi vãi ra ngoài.	- Thao tác sử dụng dụng cụ thủy tinh phải thành thạo, tránh rơi, đổ, vỡ.
4	Chuẩn bị buret và bình tam giác chứa mẫu	Buret, EDTA 0,1 N Bình nón 250ml, dung dịch đậm $\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4\text{Cl}$, dung dịch KCN 1%, dung dịch chỉ thị EBT 1%.	Tráng rửa buret sạch sẽ bằng nước cất Tráng lại buret bằng dung dịch EDTA, đuổi bọt khí, điều chỉnh EDTA 0,1N về vạch 0 - Hút chính xác thể tích các dung dịch: + Mẫu nước phân tích: 100ml + Dung dịch đậm $\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4\text{Cl}$: 10ml + Chỉ thị EBT 1%: 2 giọt + KCN 1%: 5 giọt	
5	Chuẩn độ	Buret, EDTA 0,1 N Bình nón chứa các	- Điểm tương đương: dung dịch trong bình nón	Thao tác chuẩn độ thành thạo

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
		hóa chất trên	chuyển sang màu xanh lam - Hoàn tất định phân trong vòng 5 phút - Đọc kết quả chính xác 0,05 ml. - Lấy kết quả thể tích EDTA trung bình của 3 lần chuẩn độ	
6	Tính kết quả và ghi kết quả	Sổ ghi chép, máy tính	- Tính đúng công thức - Kết quả tính theo mg CaCO₃/l, được làm tròn đến số lẻ thập phân thứ nhất.	
7	Báo cáo thử nghiệm	- Mẫu Báo cáo	Báo cáo phải được ghi đầy đủ các thông tin và kết quả có liên quan.	
8	Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị	- Chân giá sắt - Kẹp càng cua - Bình nón 250ml - Cốc thủy tinh 250ml - Phễu thủy tinh $\phi=3-4\text{cm}$ - Pipet 10ml- 50ml - Quả bóp cao su - Ống nhỏ giọt - Buret 25ml	- Các dụng cụ thủy tinh phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích, phải được sấy khô (105⁰C, 1 giờ) - Các bộ phận của máy, thiết bị phải sạch, không được sót lại mẫu vật. Các máy, thiết bị được đặt đúng nơi	- Tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh - Chú ý an toàn điện khi vệ sinh tủ sấy, cân phân tích.

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
		- Cân phân tích - Tủ sấy	quy định	

Bài 5. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CLORUA (Cl⁻)

Mục tiêu

- Trình bày được nguyên tắc của phương pháp chuẩn độ kết tủa;
- Chuẩn bị được dụng cụ, thiết bị, hóa chất cần sử dụng để xác định hàm lượng Cl⁻ của nước;
- Thao tác chuẩn độ thành thạo đảm bảo chính xác;
- Sử dụng thành thạo và an toàn bộ dụng cụ chuẩn độ, hóa chất;
- Phát hiện được những nguyên nhân làm sai lệch kết quả phân tích;
- Tính toán được kết quả phân tích theo yêu cầu;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh trong phòng kiểm nghiệm;
- Tuân thủ các qui tắc đảm bảo an toàn lao động trong phòng kiểm nghiệm.

Giới thiệu về hàm lượng clorua trong nước

Clorua là một trong các ion quan trọng trong nước

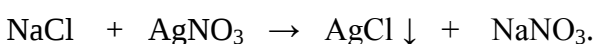
Clorua kết hợp với các ion khác như Natri, Kali tạo vị cho nước. Nhìn chung Clorua không gây hại cho sức khỏe con người. Nhưng Clorua có thể gây ra vị mặn của nước do đó ít nhiều ảnh hưởng đến quá trình sản xuất thực phẩm

Hàm lượng clorua tối đa cho phép trong nước ăn uống là 250 mg/l.

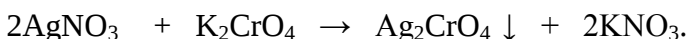
Nguyên tắc xác định hàm lượng Clorua trong nước bằng phương pháp Mohr

Dựa vào sự kết tủa phân đoạn: là kết tủa theo từng giai đoạn, kết tủa này hình thành xong rồi kết tủa kia mới bắt đầu xuất hiện.

Áp dụng phản ứng:



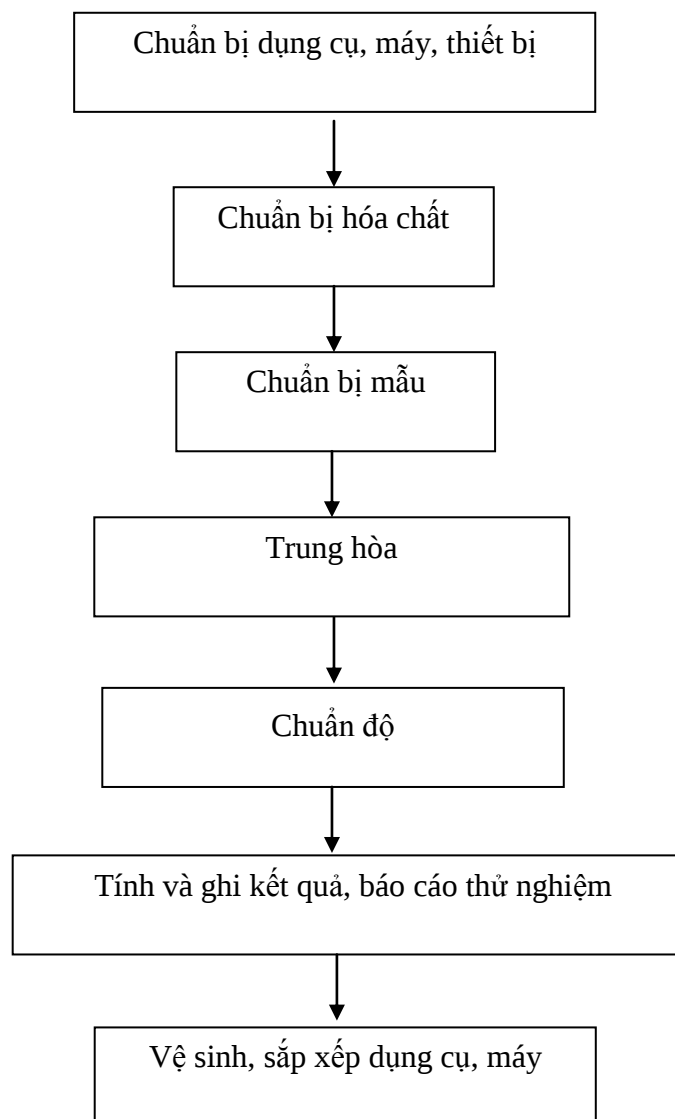
Chuẩn độ dung dịch trung tính có chứa ion Cl⁻ bằng dung dịch chuẩn AgNO₃, phản ứng trên sẽ xảy ra. Khi ion Cl⁻ trong dung dịch đã kết hợp hết với AgNO₃, một giọt AgNO₃ thừa sẽ kết hợp với K₂CrO₄ (dùng làm chỉ thị màu) tạo kết tủa Ag₂CrO₄ màu đỏ gạch, kết thúc chuẩn độ.



Từ lượng AgNO₃ tiêu tốn, có thể tính ra hàm lượng clorua trong mẫu nước phân tích.

Quy trình xác định

Quy trình xác định hàm lượng Clorua trong nước bằng phương pháp Mohr thể hiện như hình 5.1.



Hình 5.1. Quy trình xác định hàm lượng clorua trong nước

1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị

1.1. Dụng cụ, thiết bị

Các dụng cụ, thiết bị cần chuẩn bị:

- Bình định mức
- Cốc thủy tinh
- Bình nón 250ml
- Phễu lọc, pipet
- Bộ chuẩn độ
- Găng tay, khẩu trang, giấy đo pH.
- Cân phân tích

1.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
-----	------------------	---------------------------	------------------

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Chuẩn bị và kiểm tra các dụng cụ	- Bình định mức - Cốc thủy tinh - Bình nón 250ml - Phễu lọc, pipet - Bộ chuẩn độ: buret, bình nón, chân giá sắt, kẹp còng cua - Găng tay, khẩu trang, giấy đo pH.	- Sạch sẽ, không có vết nứt, sử dụng tốt - Buret phải được rửa sạch và tráng kỹ bằng nước cất
2	Chuẩn bị cân phân tích	- Cân phân tích - Tài liệu kỹ thuật hướng dẫn	Cân phân tích phải được kiểm tra và trong tình trạng hoạt động tốt

1.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Thao tác kiểm tra dụng cụ và thiết bị phải đúng theo hướng dẫn.
- Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác.
- Chú ý về an toàn điện khi kiểm tra các thiết bị.

1.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Bể vỡ dụng cụ	Để chung dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ, kim loại	Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ và kim loại khác
2	Cân phân tích: màn hình không hiện “0.0000g” khi khởi động cân	Do đặt cân không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật	Phải được kiểm tra và điều chỉnh theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật

2. Chuẩn bị hóa chất

2.1. Hóa chất

a. Các hóa chất cần chuẩn bị:

- NaOH 0,01N
- CH₃COOH 2%
- AgNO₃ 0,1N
- Chỉ thị Phenolphthalein 0,1%

- Chỉ thị K_2CrO_4 5%.

b. Cách pha các dung dịch:

- Dung dịch NaOH 0,01N: Cân 0,04g NaOH tinh thể, hòa tan bằng nước cất, định mức 100ml.

- CH_3COOH 2%: Hút 2ml CH_3COOH cho vào bình định mức 100ml, định mức đến vạch.

- $AgNO_3$ 0,1N: Cân 17g $AgNO_3$, hòa tan hoàn toàn bằng nước cất, định mức 1000ml.

- Chỉ thị K_2CrO_4 5%: Cân 5g K_2CrO_4 hòa tan với nước cất, định mức 100ml.

- Chỉ thị Phenolphthalein 0,1%

c. Dụng cụ, thiết bị:

- Bình định mức 1000ml, 100ml

- Cốc thủy tinh

- Đũa thủy tinh

- Cân phân tích.



Hình 5.2. Bình định mức



Hình 5.3. Cốc thủy tinh



Hình 5.4. Đũa thủy tinh



Hình 5.5. Cân phân tích

2.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Kiểm tra hóa chất	- NaOH	Hóa chất tinh khiết, còn

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
		- CH_3COOH - AgNO_3 - Chỉ thị Phenolphthalein - Chỉ thị K_2CrO_4	nhãn, đúng tên gọi Hóa chất còn hạn sử dụng
2	Chuẩn bị dung dịch NaOH 0,01N		
2.1	Cân hóa chất	- Hóa chất NaOH tinh khiết - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất NaOH được cân chính xác 0,04g (độ chính xác 10^{-4} g) Hóa chất NaOH không được đổ ra ngoài khi pha
2.2	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh	NaOH phải được hòa tan hoàn toàn khi pha
2.3	Định mức	- Bình định mức 100ml - Nước cất	Định mức phải đúng vạch Lắc đều
2.4	Cho dung dịch NaOH 0,01N vào lọ chứa	- Dung dịch NaOH 0,01N - Lọ chứa	Dung dịch NaOH 0,01N sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
3	Chuẩn bị dung dịch AgNO_3 0,1N		
3.1	Cân hóa chất	- Hóa chất AgNO_3 tinh khiết - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất AgNO_3 được cân chính xác 17g (độ chính xác 10^{-4} g) Hóa chất AgNO_3 không được đổ ra ngoài khi pha
3.2	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh	AgNO_3 phải được hòa tan hoàn toàn khi pha
3.3	Định mức	- Bình định mức 1000ml - Nước cất	Định mức phải đúng vạch Lắc đều
3.4	Cho dung dịch	- Dung dịch AgNO_3 0,1N	Dung dịch AgNO_3

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
	AgNO ₃ 0,1N vào lọ chứa	- Lọ chứa	0,1N sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
4	Chuẩn bị dung dịch CH ₃ COOH 2%		
4.1	Lấy hóa chất	- Hóa chất CH ₃ COOH đậm đặc - Bình định mức 100ml - Pipet	Hút chính xác 2ml CH ₃ COOH đậm đặc cho vào bình định mức. Hóa chất CH ₃ COOH không được đổ ra ngoài khi pha
4.2	Định mức	- Bình định mức 100ml - Nước cất	Định mức đúng vạch Lắc đều
4.3	Cho dung dịch CH ₃ COOH 2% vào lọ chứa	- Dung dịch CH ₃ COOH 2% - Lọ chứa	Dung dịch CH ₃ COOH 2% sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
5	Chuẩn bị chỉ thị K ₂ CrO ₄ 5%		
5.1	Cân hóa chất	- Hóa chất K ₂ CrO ₄ tinh khiết. - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất K ₂ CrO ₄ được cân chính xác 5g (độ chính xác 10 ⁻⁴ g) Hóa chất K ₂ CrO ₄ không được đổ ra ngoài khi pha
5.2	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh	K ₂ CrO ₄ phải được hòa tan hoàn toàn bằng nước cất
5.3	Định mức	- Bình định mức 100ml - Nước cất	Định mức đúng vạch Lắc đều
5.4	Cho dung dịch K ₂ CrO ₄ 5% vào lọ chứa	- Dung dịch K ₂ CrO ₄ 5% - Lọ chứa	Dung dịch K ₂ CrO ₄ 5% sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
6	Chuẩn bị chỉ thị phenolphthalein 1%		
6.1	Cân hóa chất	- Hóa chất phenolphthalein tinh khiết. - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất phenolphthalein được cân chính xác 1g(độ chính xác 10^{-4}g) Hóa chất phenolphthalein không được đổ ra ngoài khi pha
6.2	Hòa tan hóa chất	- Cồn 96⁰ - Đũa thủy tinh	Phenolphthalein phải được hòa tan hoàn toàn bằng Cồn 96 ⁰
6.3	Định mức	- Bình định mức 100ml - Nước cất	Định mức đúng vạch Lắc đều
6.4	Cho dung dịch phenolphthalein 1% vào lọ chứa	- Dung dịch phenolphthalein 1% - Lọ chứa	Dung dịch phenolphthalein 1% sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
7	Vệ sinh dụng cụ, cân phân tích	- Dụng cụ thủy tinh - Cân phân tích	Các dụng cụ thủy tinh phải rửa sạch và sấy khô ở 105⁰C, 1 giờ Cân phải được vệ sinh theo tài liệu hướng dẫn

2.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất
- Cẩn thận khi tiếp xúc với acid CH_3COOH đậm đặc và NaOH tinh thể
- Hóa chất pha xong phải đậy kín nút chai
- Dùng bình có nút nhựa để chứa dung dịch NaOH đã pha
- Cẩn thận với hóa chất AgNO_3 dễ dính vào tay và áo quần, bàn ghế rất khó vệ sinh.

2.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
------------	--------------------	--------------------	-----------------------

	<i>thường gặp</i>		
1	Hóa chất bị hư hỏng	Dùng lọ thủy tinh trong suốt để đựng hóa chất, AgNO_3 dễ bị phân hủy dưới tác dụng của ánh sáng.	Bảo quản AgNO_3 trong lọ thủy tinh màu tối và để trong tối.

3. Chuẩn bị mẫu

3.1. Phương pháp chuẩn bị mẫu

Lấy mẫu nước theo quy định hiện hành. Chuẩn bị mẫu từ mẫu được bảo quản để xác định hàm lượng clorua của nước.

Hút 100ml mẫu nước phân tích cho vào bình nón để chuẩn bị tiến hành trung hòa mẫu.

Đối với mẫu có những cặn lơ lửng, cần phải lọc loại bỏ trước khi hút mẫu.

3.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Hút mẫu	Pipet, bình tam giác 250ml	Thể tích mẫu hút cho vào bình tam giác: 100ml

3.3. Các chú ý về an toàn lao động

Cẩn thận khi sử dụng dụng cụ thủy tinh tránh bể vỡ.

4. Trung hòa mẫu

4.1. Nguyên tắc thực hiện

Phương pháp Mohr để xác định hàm lượng Clorua được tiến hành trong môi trường trung tính hoặc kiềm yếu ($\text{pH} = 6,5 - 10,5$). Tránh môi trường kiềm mạnh vì sinh thêm Ag_2O , nếu môi trường acid thì kết tủa Ag_2CrO_4 dễ bị tan do đây là muối của acid yếu H_2CrO_4 .

Do vậy, nếu mẫu có pH từ 6,5 – 10,5 thì không cần chỉnh, mẫu có pH ngoài giới hạn trên thì phải điều chỉnh pH bằng dung dịch NaOH 0,01N hoặc CH_3COOH 2% với chỉ thị phenolphthalein.

4.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Hút 10ml mẫu cho vào bình nón 250ml. Kiểm tra độ pH của mẫu.	Bình nón 250ml Giấy đo pH	$\text{pH} = 6,5 - 10,5$ (nếu không nằm trong khoảng này thì phải trung hòa mẫu).
2	Trung hòa mẫu: cho 3 giọt Phenolphthalein 0,1% vào mẫu phân	NaOH 0,01N CH_3COOH 2%	Tùy thuộc vào pH của mẫu: -Mẫu có tính acid: nhỏ từ từ NaOH 0,01N đến khi xuất hiện

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
	tích, trung hòa mẫu bằng NaOH 0,01N hoặc CH ₃ COOH 2%	Phenolphthalein 0,1%	màu hồng nhạt bền - Mẫu có tính kiềm mạnh: Nhỏ từ từ CH ₃ COOH 2% đến khi mất màu hồng, tiếp tục nhỏ từ từ NaOH 0,01N đến khi xuất hiện màu hồng.

4.3. Các chú ý về an toàn lao động

Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất.

4.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Mẫu trung hòa không đúng khoảng pH	Dùng sai hóa chất và nồng độ	Kiểm tra kỹ hóa chất và nồng độ, đối chiếu với tài liệu kỹ thuật

5. Chuẩn độ

5.1. Nguyên tắc thực hiện

- Phương pháp chuẩn độ

Chuẩn độ dung dịch trung tính có chứa clorua bằng dung dịch chuẩn AgNO₃ 0,1N, với chỉ thị K₂CrO₄ 5%.

Điểm tương đương là thời điểm xuất hiện kết tủa màu đỏ gạch.

Từ lượng AgNO₃ tiêu tốn, có thể tính ra hàm lượng clorua trong mẫu nước phân tích.

5.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Chuẩn bị dung dịch chuẩn trong buret	Bộ chuẩn độ, AgNO ₃ 0,1N	Tráng rửa buret sạch sẽ, đuổi bọt khí, điều chỉnh AgNO ₃ 0,1N về vạch 0.
2	Chuẩn độ dd mẫu chứa NaCl bằng chất chuẩn AgNO ₃ 0,1N, với chỉ thị là K ₂ CrO ₄ 5%	Bộ chuẩn độ, AgNO ₃ 0,1N, K ₂ CrO ₄ 5%	Điểm tương đương: xuất hiện kết tủa màu đỏ gạch nhạt bền vững.
3	Ghi lại số ml AgNO ₃ 0,1N tiêu tốn	Bút, sổ ghi chép	Đọc kết quả chính xác

5.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định về an toàn lao động khi sử dụng hóa chất.
- Thao tác chuẩn độ thành thạo
- Tránh để dung dịch AgNO_3 0,1N rơi vãi ra ngoài, vì dung dịch này tạo màu rất khó vệ sinh.

5.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Khó quan sát màu kết tủa tại điểm tương đương	- Màu của chỉ thị quá đậm, khó quan sát màu của kết tủa Ag_2CrO_4 - Màu của chỉ thị và màu của kết tủa không khác nhau nhiều.	- Pha chỉ thị K_2CrO_4 với nồng độ 5%. - Hết sức chú ý khi chuẩn độ để phát hiện kịp thời khi kết tủa Ag_2CrO_4 vừa xuất hiện.
2	Kết tủa Ag_2CrO_4 xuất hiện sớm	Do ion Cl^- bị hấp phụ bởi kết tủa AgCl nên có hiện tượng kết tủa Ag_2CrO_4 xuất hiện sớm.	Cần lắc mạnh trong quá trình chuẩn độ, đặc biệt là lúc cuối.

6. Làm song song 1 mẫu trắng

Tiến hành xác định hàm lượng Clorua trong mẫu trắng ở điều kiện xác định giống hệt với mẫu thử, nhưng chỉ thay mẫu thử bằng nước cất.

Lặp lại các mục 4, 5 và 6. Ghi lại thể tích AgNO_3 0,1N tiêu tốn trong quá trình chuẩn độ đối với mẫu trắng.

7. Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm

7.1. Công thức tính toán

Nồng độ clorua, tính bằng mg/l, được tính theo công thức:

$$p_{\text{Cl}} = \frac{(V_1 - V_2).C.t}{V_t}$$

Trong đó:

p_{Cl} : là nồng độ của clorua, tính bằng miligam trên lít;

V_2 là thể tích của mẫu thử, tính bằng mililit;

V_t : là thể tích của dung dịch bạc nitrat dùng để chuẩn độ trắng, tính bằng mililit;

V_1 : là thể tích của dung dịch bạc nitrat dùng để chuẩn mẫu thử, tính bằng mililit;

C: là nồng độ thực của dung dịch bạc nitrat, biểu thị bằng mol của AgNO_3 trong 1 lít;

t là hệ số chuyển đổi, $t = 36453$ mg/mol

7.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Tính kết quả	Sổ ghi chép, máy tính	- Tính đúng công thức - Kết quả tính theo mg/l, được làm tròn đến số lẻ thập phân thứ nhất.
2	Ghi kết quả vào phiếu và sổ lưu	- Phiếu kết quả - Sổ lưu	Ghi chính xác kết quả
3	Báo cáo thử nghiệm	- Mẫu Báo cáo	Báo cáo phải được ghi đầy đủ về: - Phương pháp thử nghiệm - Dụng cụ, thiết bị, hóa chất thử nghiệm - Phương pháp chuẩn bị mẫu - Cách tiến hành - Kết quả thử tích AgNO_3 0,1N tiêu tốn - Kết quả hàm lượng clorua của mẫu nước phân tích - Phân tích các nguyên nhân gây sai số trong quá trình xác định và cách khắc phục.

7.3. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Kết quả xác định hàm lượng clorua của nước không chính xác	- Áp dụng chưa đúng công thức tính toán	Kiểm tra công thức và kết quả tính toán

8. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị

8.1. Nguyên tắc thực hiện

- Dụng cụ chủ yếu là thủy tinh, được rửa bằng xà phòng và dùng chổi để lấy chất bẩn trong dụng cụ, sau đó rửa sạch bằng nước máy, cuối cùng tráng qua nước cất. Sau đó, được sấy khô ở nhiệt độ 105°C , 1 giờ.

- Đối với hệ thống chưng cất, cần làm nguội rồi mới tháo rời các chi tiết để vệ sinh.

- Vệ sinh cân phân tích: Dùng giấy mềm thấm lau sạch bề mặt cân và xung quang khu vực cân (theo tài liệu kỹ thuật)

8.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Vệ sinh dụng cụ thủy tinh	- Bình định mức - Cốc thủy tinh - Bình nón 250ml - Phễu lọc, pipet - Bộ chuẩn độ	Phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích. Dụng cụ thủy tinh phải được sấy khô (105⁰C, 1 giờ) Sắp xếp theo quy định
3	Vệ sinh, sắp xếp máy, thiết bị	- Tủ sấy - Cân phân tích	Các bộ phận của thiết bị phải sạch, không được bám mẫu phân tích. Các máy, thiết bị được đặt đúng nơi quy định.

8.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Cần thận tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh.
- Cân phân tích phải được ngừng máy, rút dây nguồn, rồi mới được vệ sinh.

8.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Cân bị lỗi	Tắt máy không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Vệ sinh khi chưa tắt cân	Tắt cân theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Phải tắt cân rồi mới được vệ sinh
2	Buret bẩn	Buret chưa được vệ sinh, vẫn còn chứa hóa chất	Đổ hóa chất chuẩn về lại bình chứa. Rửa sạch buret và tráng lại bằng nước cất, treo ngược lên trên giá sắt cho ráo nước.

9. Một số nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Bể vỡ dụng cụ	Để chung dụng cụ thủy	Không để lẫn lộn các dụng

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
		tinh với các dụng cụ bằng sứ, kim loại	cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ và kim loại khác
2	Cân phân tích: màn hình không hiện “0.0000g” khi khởi động cân	Do đặt cân không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật	Phải được kiểm tra và điều chỉnh theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật
3	Hóa chất bị hư hỏng	Dùng lọ thủy tinh trong suốt để đựng hóa chất, AgNO_3 dễ bị phân hủy dưới tác dụng của ánh sáng.	Bảo quản AgNO_3 trong lọ thủy tinh màu tối và để trong tối.
4	Khó quan sát màu kết tủa tại điểm tương đương	- Màu của chỉ thị quá đậm, khó quan sát màu của kết tủa Ag_2CrO_4 - Màu của chỉ thị và màu của kết tủa không khác nhau nhiều.	- Pha chỉ thị K_2CrO_4 với nồng độ 5%. - Hết sức chú ý khi chuẩn độ để phát hiện kịp thời khi kết tủa Ag_2CrO_4 vừa xuất hiện.
5	Kết tủa Ag_2CrO_4 xuất hiện sớm	Do ion Cl^- bị hấp phụ bởi kết tủa AgCl nên có hiện tượng kết tủa Ag_2CrO_4 xuất hiện sớm.	Cần lắc mạnh trong quá trình chuẩn độ, đặc biệt là lúc cuối.
6	Kết quả xác định hàm lượng clorua của nước không chính xác	- Áp dụng chưa đúng công thức tính toán	Kiểm tra công thức và kết quả tính toán
7	Cân bị lỗi	Tắt máy không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Vệ sinh khi chưa tắt cân	Tắt cân theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Phải tắt cân rồi mới được vệ sinh
8	Buret bẩn	Buret chưa được vệ sinh, vẫn còn chứa hóa chất	Đổ hóa chất chuẩn về lại bình chứa. Rửa sạch buret và tráng lại bằng nước cất, treo ngược lên trên giá sắt cho ráo nước.

10. Thực hành xác định hàm lượng Cl của nước

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
1	Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị	- Bình định mức - Cốc thủy tinh - Bình nón 250ml - Phễu lọc, pipet - Bộ chuẩn độ: buret, bình nón, chân giá sắt, kẹp còng cua - Găng tay, khẩu trang, giấy đo pH. - Cân phân tích	- Dụng cụ sạch, khô và không có vết nứt. - Thiết bị phải được kiểm tra và trong tình trạng hoạt động tốt	- Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác. - Chú ý về an toàn điện khi kiểm tra các thiết bị
2	Chuẩn bị hóa chất Pha các dung dịch: - NaOH 0,01N - CH₃COOH 2% - AgNO₃ 0,1N - Chỉ thị Phenolphthalein 0,1% - Chỉ thị K₂CrO₄ 5%.	Bình định mức, cốc thủy tinh, đĩa thủy tinh; cân phân tích. - NaOH - CH₃COOH - AgNO₃ - Chỉ thị Phenolphthalein - Chỉ thị K₂CrO₄ - Nước cất	- Hóa chất tinh khiết, còn nhãn, đúng tên gọi - Hóa chất còn hạn sử dụng - Các hóa chất pha đúng nồng độ quy định	- Dùng bình có nút nhựa để chứa dung dịch NaOH đã pha - Cẩn thận với hóa chất AgNO₃ dễ dính vào tay và áo quần, bàn ghế rất khó vệ sinh.
3	Chuẩn bị mẫu	Pipet, bình tam giác 250ml	Thẻ tích mẫu hút cho vào bình tam giác: 100ml	- Cẩn thận khi sử dụng dụng cụ thủy tinh tránh bể vỡ.
4	Trung hòa mẫu	Bình nón 250ml Giấy đo pH NaOH 0,01N CH ₃ COOH 2% Phenolphthalein 0,1%	Tùy thuộc vào pH của mẫu: -Mẫu có tính acid: nhỏ từ từ NaOH 0,01N đến khi xuất hiện màu hồng nhạt bền - Mẫu có tính kiềm	- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất.

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
			mạnh: Nhỏ từ từ CH_3COOH 2% đến khi mất màu hồng, tiếp tục nhỏ từ từ NaOH 0,01N đến khi xuất hiện màu hồng.	
5	Chuẩn độ	Bộ chuẩn độ, AgNO_3 0,1N, K_2CrO_4 5%	Tráng rửa buret sạch sẽ, đuổi bọt khí, điều chỉnh AgNO_3 0,1N về vạch 0 - Điểm tương đương: xuất hiện kết tủa màu đỏ gạch nhạt bền vững. - Đọc kết quả chính xác 0,05 ml	- Tránh để dung dịch AgNO_3 0,1N rơi vãi ra ngoài, vì dung dịch này tạo màu rất khó vệ sinh. - Thao tác chuẩn độ thành thạo
6	Làm song song 1 mẫu trắng	Lặp lại các mục 4, 5 và 6	- Thay mẫu thử bằng nước cất. - Ghi lại thể tích AgNO_3 0,1N tiêu tốn trong quá trình chuẩn độ đối với mẫu trắng.	
7	Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm	Sổ ghi chép, máy tính - Phiếu kết quả - Sổ lưu	- Tính đúng công thức - Kết quả tính theo %, được làm tròn đến số lẻ thập phân thứ nhất.	
8	Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị	Dụng cụ thủy tinh Cân phân tích	- Các dụng cụ thủy tinh phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích, phải được sấy khô	- Tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh - Cân phân tích phải được

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
			Các máy, thiết bị được đặt đúng nơi quy định	ngừng máy rồi mới được vệ sinh.

Bài 6. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NH_4^+

Mục tiêu

- Lựa chọn được các dụng cụ, thiết bị xác định hàm lượng NH_4^+ phù hợp;
- Sử dụng được bộ chưng cất, bếp đun bình cầu, cân phân tích, bộ chuẩn độ thành thạo;
- Thực hiện xác định hàm lượng NH_4^+ theo đúng trình tự, chính xác và an toàn;
- Tính kết quả hàm lượng NH_4^+ chính xác;
- Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị theo quy định.

Giới thiệu về hàm lượng NH_4^+ trong nước

NH_4^+ trong nước tồn tại dưới các dạng amoni tự do (NH_3), monochloramine (NH_2Cl), dichloramine (NHCl_2) và trichloramine.

NH_4^+ không tồn tại lâu trong nước mà dễ dàng chuyển thành nitrite. Do vậy nếu tồn tại trong nước với hàm lượng vượt quá tiêu chuẩn cho phép, nó có thể chuyển hóa thành các chất gây ung thư và là nguyên nhân của các bệnh nguy hiểm khác.

Xác định hàm lượng NH_4^+ trong nước là một trong những chỉ tiêu đánh giá chất lượng của nước dùng trong thực phẩm. Theo tiêu chuẩn hàm lượng NH_4^+ trong nước dùng cho thực phẩm không quá 1,5 mg/l.

Nguyên tắc xác định hàm lượng NH_4^+ trong nước bằng phương pháp chưng cất và chuẩn độ

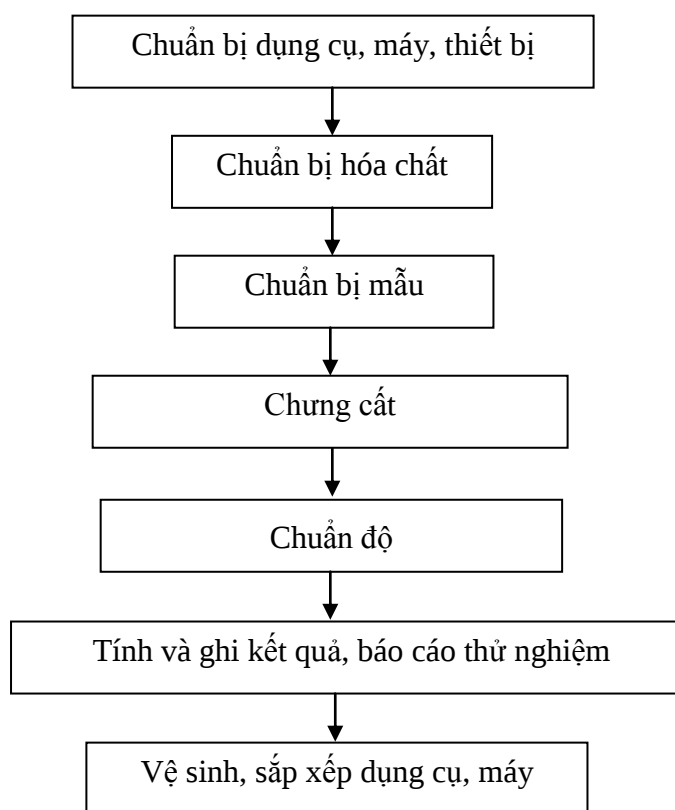
Điều chỉnh pH của phần mẫu thử đến khoảng 6,0 - 7,4. Thêm magiê oxit để tạo môi trường kiềm yếu, chưng cất amoniac được giải phóng và thu vào bình chứa có sẵn dung dịch boric. Chuẩn độ amoni trong phần cất được bằng dung dịch chuẩn acid HCl 0,1N.

Kết thúc quá trình chuẩn độ khi dung dịch chuyển sang màu hồng. Ghi thể tích HCl đã dùng.

Từ thể tích HCl tiêu tốn, tính được hàm lượng NH_4^+ .

Quy trình xác định

Quy trình xác định hàm lượng NH_4^+ bằng phương pháp chưng cất và chuẩn độ thể hiện như hình 6.1.



Hình 6.1. Quy trình xác định hàm lượng NH_4^+ trong nước

1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị

1.1. Dụng cụ, thiết bị

Các dụng cụ cần chuẩn bị:



Hình 6.2. Bộ chưng cất amoni bằng thủy tinh

- Bộ chưng cất bằng thủy tinh: gồm một bình cất dung tích 800 - 1000ml, nối với ống mao quản và với một ống sinh hàn thẳng đứng, đầu ra của sinh hàn phải nhúng ngập vào dung dịch hấp thụ.

- Chân giá sắt, kẹp cồng cua
- Buret 25ml; Bình nón 250ml; Cốc thủy tinh 250ml
- Phễu thủy tinh $\phi = 3-4\text{cm}$
- Pipet 10ml- 50ml
- Quả bóp cao su, ống nhỏ giọt.

Các thiết bị cần chuẩn bị:

- Bếp đun bình cầu 1lit
- Cân phân tích
- Tủ sấy dụng cụ

1.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Chuẩn bị và kiểm tra các dụng cụ	- Chân giá sắt, kẹp cồng cua - Buret 25ml; Bình nón 250ml; Cốc thủy tinh 250ml - Phễu thủy tinh $\phi = 3-4\text{cm}$ - Pipet 10ml- 50ml - Quả bóp cao su, ống nhỏ giọt. - Bình cất dung tích 1000ml - Ống mao quản - Ống sinh hàn thẳng	- Sạch sẽ, không có vết nứt, sử dụng tốt - Buret phải được rửa sạch và tráng kỹ bằng nước cất - Bộ chưng cất phải được rửa sạch từng bộ phận tách rời nhau bao gồm: bình cất dung tích 1000 ml, ống mao quản, ống sinh hàn thẳng.
2	Chuẩn bị cân phân tích	- Cân phân tích - Tài liệu kỹ thuật hướng dẫn	Cân phân tích phải được kiểm tra và trong tình trạng hoạt động tốt
3	Chuẩn bị và kiểm tra các thiết bị	- Bếp đun bình cầu - Tủ sấy dụng cụ	Các thiết bị phải được kiểm tra và trong tình trạng hoạt động tốt

1.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Thao tác kiểm tra dụng cụ và thiết bị phải đúng theo hướng dẫn
- Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác.
- Chú ý về an toàn điện khi kiểm tra các thiết bị.

1.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Bể vỡ dụng cụ	Đề chung dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ, kim loại	Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ và kim loại khác
2	Cân phân tích: màn hình không hiện “0.0000g” khi khởi động cân	Do đặt cân không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật	Phải được kiểm tra và điều chỉnh theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật
3	Bếp đun bình cầu, tủ sấy: không hoạt động khi khởi động	Do hở các mối điện	Kiểm tra dây điện, ổ cắm điện và thay dây điện nếu cần

2. Chuẩn bị hóa chất

2.1. Hóa chất

a. Các hóa chất cần chuẩn bị:

- Acid HCl 0,1M, 1%;
- NaOH 1M;
- MgO tinh khiết;
- Dung dịch chỉ thị metyl xanh và metyl đỏ
- Acid boric
- Chỉ thị Bromothymol xanh

b. Cách pha các dung dịch:

- Acid HCl 0,1M: Hút 8,3 ml dung dịch acid HCl đậm đặc 37% ($d=1,19$ g/mol) cho vào bình định mức 1000ml có sẵn 500ml nước cất. Định mức đến vạch, lắc đều.

-NaOH 1M: Hoà tan 40 g natri hydroxit vào khoảng 500ml nước. Làm nguội đến nhiệt độ phòng và pha loãng thành 1 lít.

- Acid Boric và chỉ thị: Hoà tan $0,5 \pm 0,1$ g metyl đỏ loại tan trong nước vào khoảng 800ml nước rồi pha loãng thành 1 lít. Hoà tan $1,5 \pm 0,1$ g xanh metylen vào khoảng 800 ml nước rồi pha loãng thành 1 lít.

Hoà tan 20 g axit boric (H_3BO_3) vào nước ấm. Để nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm 10ml dung dịch metyl đỏ và 2,0 ml dung dịch xanh metylen rồi pha loãng thành 1 lít.

- Chỉ thị Bromothymol xanh: Hoà tan 0,5 bromothymol xanh vào nước và pha loãng thành 1 lít.

c. Dụng cụ, thiết bị:

- Bình định mức 1000ml

- Cốc thủy tinh
- Đũa thủy tinh
- Cân phân tích



Hình 6.3. Bình định mức



Hình 6.4. Cốc thủy tinh



Hình 6.5. Đũa thủy tinh



Hình 6.6. Cân phân tích

2.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Kiểm tra hóa chất	- NaOH - HCl - MgO tinh khiết; - Acid Boric - Metyl xanh - Metyl đỏ - Bromothymol xanh	Hóa chất tinh khiết, còn nhãn, đúng tên gọi Hóa chất còn hạn sử dụng
2	Chuẩn bị dung dịch HCl 0,1M		
2.1	Lấy hóa chất	- HCl đậm đặc - Nước cất	Bình định mức được cho vào 500ml nước cất Hóa chất HCl đậm đặc

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
		- Pipet - Bình định mức 1000ml	không được đổ ra ngoài khi lấy. Hút chính xác 8,3ml H_2SO_4 đậm đặc cho vào bình định mức
2.2	Định mức	- Nước cất - Bình định mức 1000ml	Định mức phải đúng vạch Lắc đều
2.3	Định chuẩn HCl 0,1M	- Buret 25ml, Bình tam giác 250ml - $Na_2B_4O_7$	Dung dịch HCl 0,1M pha từ hóa chất tinh khiết phải được kiểm tra lại nồng độ bằng $Na_2B_4O_7$.
2.4	Cho HCl 0,1M vào lọ chứa	- Dung dịch HCl 0,1M	Dung dịch HCl 0,1M sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
3	Chuẩn bị dung dịch NaOH 1M		
3.1	Cân hóa chất	- Hóa chất NaOH tinh khiết - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất NaOH được cân chính xác 40g(độ chính xác $10^{-4}g$) Hóa chất NaOH không được đổ ra ngoài khi pha
3.2	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh	NaOH phải được hòa tan hoàn toàn khi pha
3.3	Định mức	- Bình định mức 1000ml - Nước cất	Đổ nguội hoàn toàn Định mức phải đúng vạch Lắc đều
3.4	Cho dung dịch NaOH 1M vào lọ chứa	- Dung dịch NaOH 1M - Lọ chứa	Dung dịch NaOH 1M sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
4	Chuẩn bị dung dịch Acid Boric và chỉ thị		

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
4.1	<i>Pha metyl đỏ</i> Cân hóa chất	- Hóa chất metyl đỏ tinh khiết - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất metyl đỏ được cân chính xác $0,5 \pm 0,1\text{g}$ (độ chính xác 10^{-4}g) Hóa chất metyl đỏ không được đổ ra ngoài khi pha
	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh	Metyl đỏ phải được hòa tan hoàn toàn khi pha
	Định mức	- Bình định mức 1000ml - Nước cất	Định mức phải đúng vạch Lắc đều
	Cho dung dịch metyl đỏ vào lọ chứa	- Dung dịch metyl đỏ - Lọ chứa	Dung dịch metyl đỏ sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
4.2	<i>Pha metyl xanh:</i> Cân hóa chất	- Hóa chất metyl xanh tinh khiết - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất metyl xanh được cân chính xác $1,5 \pm 0,1\text{g}$ (độ chính xác 10^{-4}g) Hóa chất metyl xanh không được đổ ra ngoài khi pha
	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh	Metyl xanh phải được hòa tan hoàn toàn khi pha
	Định mức	- Bình định mức 1000ml - Nước cất	Định mức phải đúng vạch Lắc đều
	Cho dung dịch metyl xanh vào lọ chứa	- Dung dịch metyl xanh - Lọ chứa	Dung dịch metyl xanh sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
4.3	Cân hóa chất acid boric	- Hóa chất H_3BO_3 tinh khiết. - Cốc - Cân phân tích - Nước ấm	Hóa chất H_3BO_3 được cân chính xác 20g (độ chính xác 10^{-4}g) Hóa chất H_3BO_3 không được đổ ra ngoài khi pha

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
4.4	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh	- H_3BO_3 phải được hòa tan hoàn toàn bằng nước ấm khi pha - Để nguội
4.5	Thêm chất chỉ thị	- Metyl xanh đã pha - Metyl đỏ đã pha - Pipet	Hút chính xác 8ml dung dịch metyl đỏ, 2ml dung dịch metyl xanh cho vào dung dịch H_3BO_3 ở trên.
4.6	Định mức	- Bình định mức 1000ml - Nước cất	Định mức đúng vạch Lắc đều
4.7	Cho dung dịch Acid Boric và chỉ thị vào lọ chứa	- Dung dịch Acid Boric và chỉ thị - Lọ chứa	Dung dịch Acid Boric và chỉ thị sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
5	Chuẩn bị chỉ thị Bromothylmol xanh		
5.1	Cân hóa chất	- Hóa chất Bromothylmol xanh tinh khiết. - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất Bromothylmol xanh được cân chính xác 0,5g(độ chính xác 10^{-4} g) Hóa chất H_3BO_3 không được đổ ra ngoài khi pha
5.2	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh	Bromothylmol xanh phải được hòa tan hoàn toàn bằng nước cất
5.3	Định mức	- Bình định mức 1000ml - Nước cất	Định mức đúng vạch Lắc đều
5.4	Cho dung dịch Bromothylmol xanh vào lọ chứa	- Dung dịch Bromothylmol xanh- Lọ chứa	Dung dịch Bromothylmol xanh sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
6	Vệ sinh dụng cụ,	- Dụng cụ thủy tinh	Các dụng cụ thủy tinh phải rửa sạch và sấy khô ở $105^{\circ}C$,

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
	cân	- Cân phân tích	1 giờ Cân phải được vệ sinh theo tài liệu hướng dẫn

2.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất; Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác.

- Đọc kỹ hướng dẫn sử dụng khi thao tác trên cân phân tích; Cẩn thận khi pha acid HCl đậm đặc, hơi acid có thể gây hồng niêm mạc mũi. Pha acid HCl trong tủ hút.

2.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Nồng độ dung dịch không ổn định	HCl 0,1N được sử dụng làm chất chuẩn nhưng không phải là chất khởi đầu, nên nồng độ sẽ không ổn định theo thời gian	Định lại nồng độ của HCl 0,1N bằng chất khởi đầu trước khi tiến hành chuẩn độ
2	H ₃ BO ₃ không được hòa tan hoàn toàn	Không sử dụng nước ấm để hòa tan hóa chất	Sử dụng nước ấm để hòa tan hóa chất

3. Chuẩn bị mẫu

3.1. Nguyên tắc thực hiện

Lượng mẫu nước cần hút để phân tích tùy thuộc vào hàm lượng NH₄⁺ có trong mẫu phân tích. Nếu biết sơ bộ hàm lượng amoni gần đúng trong mẫu, chọn thể tích phần mẫu thử theo bảng 5.1. Điều chỉnh pH của phần mẫu thử đến khoảng 6,0 - 7,4 bằng các hóa chất NaOH 1M, HCl 0,1M với chỉ thị Bromothymol xanh.

Bảng 6.1. Thể tích mẫu thử tương ứng với hàm lượng amoni.

<i>Nồng độ NH₄⁺, mg/l</i>	<i>Thể tích phần mẫu thử, ml</i>
< 10	250
10 - 20	100
20 - 50	50
50 - 100	25

3.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
------------	-------------------------	----------------------------------	-------------------------

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Hút mẫu	Pipet, bình cất dung tích 800-1000ml	Thẻ tích mẫu hút cho vào bình cất tùy vào hàm lượng NH_4^+
2	Điều chỉnh pH	Pipet, bình cất dung tích 800-1000ml, Bromothymol xanh, NaOH 1M, HCl 0,1M	pH đến khoảng từ 6,0 (chỉ thị có màu vàng) đến 7,4 (chỉ thị có màu xanh)

3.3. Các chú ý về an toàn lao động

Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất.

3.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Điều chỉnh pH của môi trường quá 7,4	Cho quá nhiều NaOH 1M	Nhỏ từ từ dung dịch NaOH 1M. Hoặc có thể thay thế dung dịch NaOH có nồng độ nhỏ hơn.

4. Chung cất

4.1. Nguyên tắc thực hiện

Lắp hệ thống chung cất. Thêm magiê oxit để tạo môi trường kiềm yếu, chung cất amoniac được giải phóng và thu vào bình chứa có sẵn dung dịch boric.

4.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Thêm hóa chất vào bình cất	Pipet, bình cất dung tích 800-1000ml, MgO, nước cất	Khối lượng MgO: 0,25g Thêm nước cất cho đủ 350ml.
2	Lắp hệ thống chung cất	Bình cất dung tích 800 - 1000ml, ống mao quản, ống sinh hàn thẳng đứng, bình hứng, bếp điện.	Lắp đúng sơ đồ, hệ thống kín
3	Chuẩn bị bình hứng	dung dịch boric và chỉ thị	Thẻ tích dung dịch boric và chỉ thị trong bình hứng: 50ml Đầu cuối của ống sinh hàn ngập trong dung dịch boric.

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
4	Chưng cất	Hệ thống chưng cất, dung dịch boric và chỉ thị	Tốc độ chảy vào bình hứng khoảng 10ml/ phút. Dùng cất khi đã thu được khoảng 200ml ở bình hứng.

4.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất.
- Khi lắp bộ chưng cất NH_4^+ cần thao tác nhẹ nhàng, bôi trơn các khớp nối.
- Cần làm sạch máy chưng cất mỗi khi máy ngừng làm việc trong ít ngày.
- Thêm đá bọt vào bình cất nếu dung dịch sôi quá mạnh.

4.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Lượng NH_4^+ sau khi chưng cất bị sai số, làm kết quả cao	Nước cất sử dụng có chứa NH_4^+	Điều chế nước cất không chứa NH_4^+ bằng phương pháp trao đổi ion.
2	Dung dịch trong bình cất sôi quá mạnh	Sử dụng nguồn nhiệt cao	- Điều chỉnh nguồn nhiệt hợp lý - Thêm đá bọt vào bình cất
3	Thất thoát amoni	Đuôi ống sinh hàn không được ngập trong dung dịch boric	Kiểm tra lại đuôi ống sinh hàn, thêm nước cất vào cho ngập nếu cần thiết.

5. Chuẩn độ

5.1. Nguyên tắc thực hiện

Chuẩn độ amoni trong phân cất được bằng dung dịch chuẩn acid HCl 0,1N.

Kết thúc quá trình chuẩn độ khi dung dịch chuyển sang màu hồng. Ghi thể tích HCl 0,1M đã dùng.

5.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Chuẩn bị dung dịch HCl 0,1M trên buret	Buret, HCl 0,1 M	Tráng rửa buret sạch sẽ, đuổi bọt khí, điều chỉnh HCl 0,1M về vạch 0

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
2	Chuẩn độ	Buret, HCl 0,1 M Bình hứng sau khi chưng cất	- Điểm tương đương: dung dịch trong bình nón chuyển sang màu hồng
3	Ghi lại số ml HCl 0,1M tiêu tốn	Bút, sổ ghi chép	Đọc kết quả chính xác 0,05 ml.

5.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định về an toàn lao động khi sử dụng hóa chất.
- Thao tác chuẩn độ thành thạo.

5.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Lượng HCl tiêu tốn quá ít	Hàm lượng amoni trong mẫu quá thấp	Dùng HCl 0,02M để chuẩn độ

6. Làm song song 1 mẫu trắng

Tiến hành xác định hàm lượng NH_4^+ trong mẫu trắng ở điều kiện xác định giống hệt với mẫu thử, nhưng chỉ thay mẫu thử bằng nước cất.

Lặp lại các mục 5 và 6. Ghi lại thể tích HCl 0,1M tiêu tốn trong quá trình chuẩn độ đối với mẫu trắng.

7. Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm

7.1. Công thức tính kết quả

Nồng độ amoni tính theo nitơ, C_N , tính bằng mg/l, được tính theo công thức:

$$C_N = \frac{V_1 - V_2 \cdot C \cdot 14,01 \cdot 1000}{V_0}$$

Trong đó:

V_0 là thể tích của mẫu thử, ml;

V_1 là thể tích của axit clohydric chuẩn tiêu tốn trong chuẩn độ mẫu, ml;

V_2 là thể tích của axit clohydric chuẩn tiêu tốn trong chuẩn độ mẫu trắng, ml;

C là nồng độ chính xác của dung dịch HCl dùng để chuẩn độ, M;

14,01 là khối lượng nguyên tử của nitơ, g/mol.

7.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Tính kết quả	Sổ ghi chép, máy tính	- Tính đúng công thức - Kết quả tính theo mg/l, được làm tròn đến số lẻ thập phân thứ nhất.
2	Ghi kết quả vào phiếu và sổ lưu	- Phiếu kết quả - Sổ lưu	Ghi chính xác kết quả
3	Báo cáo thử nghiệm	Mẫu Báo cáo	Báo cáo phải được ghi đầy đủ về: - Phương pháp thử nghiệm - Dụng cụ, thiết bị, hóa chất thử nghiệm - Phương pháp chuẩn bị mẫu - Cách tiến hành - Kết quả thể tích chất chuẩn HCl 0,1M - Kết quả hàm lượng NH_4^+ của mẫu nước phân tích - Phân tích các nguyên nhân gây sai số trong quá trình xác định và cách khắc phục.

7.3. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Kết quả xác định hàm lượng NH_4^+ của nước không chính xác	Áp dụng chưa đúng công thức tính toán	Kiểm tra công thức và kết quả tính toán

8. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị

8.1. Nguyên tắc thực hiện

a. Phương pháp vệ sinh dụng cụ thủy tinh:

Dụng cụ được rửa bằng xà phòng và dùng chổi để lấy chất bẩn trong dụng cụ, sau đó rửa sạch bằng nước máy, cuối cùng tráng qua nước cất. Sau đó, được sấy khô ở nhiệt độ 105°C , 1 giờ.

Đối với hệ thống chung cất, cần làm nguội rồi mới tháo rời các chi tiết để vệ sinh.

b. Phương pháp vệ sinh các thiết bị:

- Cân phân tích: Dùng giấy mềm thấm lau sạch bề mặt cân và xung quang khu vực cân (theo tài liệu kỹ thuật)

- Tủ sấy, bếp đun bình cầu: Vệ sinh sạch bên trong và ngoài máy sau khi tắt máy làm nguội.

8.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Vệ sinh dụng cụ thủy tinh	Buret 25ml; Bình nón 250ml; Cốc thủy tinh 250ml - Phễu thủy tinh $\phi = 3-4\text{cm}$ - Pipet 10ml- 50ml - Bình cất dung tích 1000ml - Ống mao quản - Ống sinh hàn thẳng	Phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích. Dụng cụ thủy tinh phải được sấy khô (105°C , 1 giờ) Sắp xếp theo quy định
2	Vệ sinh, sắp xếp máy, thiết bị	- Tủ sấy - Cân phân tích - Bếp đun bình cầu	Các bộ phận của thiết bị phải sạch, không được bám mẫu phân tích. Các máy, thiết bị được đặt đúng nơi quy định.

8.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Cần thận tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh.

- Bếp đun bình cầu, tủ sấy, cân phân tích phải được ngừng máy, rút dây nguồn, rồi mới được vệ sinh.

- Chú ý an toàn điện khi vệ sinh bếp điện, máy so màu không để dây điện ướt, tay ướt chạm vào ổ điện, phích điện.

8.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Cân bị lỗi	Tắt máy không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Vệ sinh khi chưa tắt cân	Tắt cân theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Phải tắt cân rồi mới được vệ sinh

2	Buret bẩn	Buret chưa được vệ sinh, vẫn còn chứa hóa chất	Đổ hóa chất chuẩn về lại bình chứa. Rửa sạch buret và tráng lại bằng nước cất, treo ngược lên trên giá sắt cho ráo nước.
---	-----------	--	--

9. Thực hành xác định hàm lượng NH_4^+ trong nước

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
1	Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị	- Chân giá sắt, kẹp cồng cua - Buret 25ml; Bình nón 250ml; Cốc thủy tinh 250ml - Phễu thủy tinh $\phi=3-4\text{cm}$ - Pipet 10ml- 50ml - Quả bóp cao su, ống nhỏ giọt. - Bình cất dung tích 1000ml - Ống mao quản - Ống sinh hàn thẳng - Cân phân tích - Bếp đun bình cầu - Tủ sấy dụng cụ	- Dụng cụ sạch, khô và không có vết nứt. - Thiết bị phải được kiểm tra và trong tình trạng hoạt động tốt	- Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác. - Chú ý về an toàn điện khi kiểm tra các thiết bị
2	Chuẩn bị hóa chất Pha các dung dịch: Acid HCl 0,1M, 1%; NaOH 1M; dung dịch acid boric và chỉ thị chỉ thị Bromothylmol xanh	Bình định mức, cốc thủy tinh, đĩa thủy tinh; cân phân tích, HCl, NaOH, chỉ thị metyl xanh và metyl đỏ, acid boric, chỉ thị Bromothylmol xanh, nước cất	- Hóa chất tinh khiết, còn nhãn, đúng tên gọi - Hóa chất còn hạn sử dụng - Các hóa chất pha đúng nồng độ quy định	- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất - Cẩn thận khi pha acid HCl đậm đặc, hơi

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
				acid có thể gây bỏng niêm mạc mũi. Pha acid HCl trong tủ hút
3	Chuẩn bị mẫu	Pipet, bình cất dung tích 800-1000ml, Bromothymol xanh, NaOH 1M, HCl 0,1M	Thẻ tích mẫu hút cho vào bình cất tùy vào hàm lượng NH_4^+ - Điều chỉnh pH đến khoảng từ 6,0 (chỉ thị có màu vàng) đến 7,4 (chỉ thị có màu xanh)	Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động khi tiếp xúc với hóa chất
4	Chưng cất	Bình cất dung tích 800 - 1000ml, ống mao quản, ống sinh hàn thẳng đứng, bình hứng, bếp điện. MgO, nước cất dung dịch boric và chỉ thị	Lắp đúng sơ đồ, hệ thống kín Thẻ tích dung dịch boric và chỉ thị trong bình hứng: 50ml - Đầu cuối của ống sinh hàn ngập trong dung dịch boric.	- Cẩn thận khi làm việc với acid H_2SO_4 khi đun sôi - Mang găng tay khi tiếp xúc với hóa chất
5	Chuẩn độ	Buret, HCl 0,1M Bình hứng sau khi chưng cất	Tráng rửa buret sạch sẽ, đuổi bọt khí, điều chỉnh HCl 0,1M về vạch 0 - Điểm tương đương: dung dịch trong bình nón chuyển sang màu hồng - Đọc kết quả chính xác 0,05 ml	- Tuân thủ các quy định về an toàn lao động khi sử dụng hóa chất. - Thao tác chuẩn độ thành thạo.
6	Làm song song 1 mẫu trắng	Lặp lại các mục 5 và 6	- Thay mẫu thử bằng nước cất. - Ghi lại thẻ tích HCl 0,1M tiêu tốn trong quá trình chuẩn độ	

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
			đối với mẫu trắng.	
7	Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm	Sổ ghi chép, máy tính - Phiếu kết quả - Sổ lưu	- Tính đúng công thức - Kết quả tính theo %, được làm tròn đến số lẻ thập phân thứ nhất.	
8	Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị	Dụng cụ thủy tinh Cân phân tích Tủ sấy Bếp đun bình cầu	- Các dụng cụ thủy tinh phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích, phải được sấy khô (105°C , 1 giờ) Bình hút ẩm sắp xếp theo quy định - Các bộ phận của máy, thiết bị phải sạch, không được sót lại mẫu vật. Các máy, thiết bị được đặt đúng nơi quy định	- Tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh - Tủ sấy; Bếp đun bình cầu phải được ngừng máy rồi mới được vệ sinh để tránh bỏng

Bài 7. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG OXY HÒA TAN

Mục tiêu

- Lựa chọn được các dụng cụ, thiết bị xác định hàm lượng oxy hòa tan phù hợp;
- Sử dụng được máy so màu, cân phân tích thành thạo;
- Thực hiện xác định hàm lượng oxy hòa tan theo đúng trình tự, chính xác và an toàn;
- Tính kết quả hàm lượng oxy hòa tan chính xác;
- Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị theo quy định.

Giới thiệu về hàm lượng oxy hòa tan trong nước

Hàm lượng oxy hòa tan trong nước chính là hàm lượng oxy hòa tan trên một đơn vị thể tích.

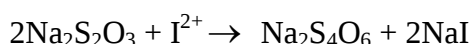
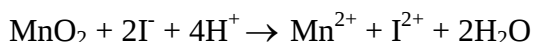
Nồng độ oxy hòa tan trong nước thường được tạo ra do sự khuếch tán, hòa tan của không khí vào trong nước và một phần nhỏ là do sự quang hợp của tảo,....

Hàm lượng oxy hòa tan trong nước là một chỉ số quan trọng đánh giá mức độ ô nhiễm của nguồn nước.

Giới hạn tối đa của hàm lượng oxy hòa tan trong nước dùng để rửa nguyên liệu là 6mg/l; đối với nước trộn trong thực phẩm là 2 mg/l.

Nguyên tắc xác định hàm lượng oxy hòa tan trong nước

Mn²⁺ có khả năng khử I⁻ thành I₂ tự do trong môi trường acid. Như vậy lượng I₂ được giải phóng tương đương với lượng oxy hòa tan có trong nước. Lượng iod này được xác định theo phương pháp chuẩn độ bằng thiousulfate với chỉ thị tinh bột.



Quy trình xác định

Quy trình xác định hàm lượng oxy hòa tan trong nước bằng phương pháp chuẩn độ iod thể hiện như hình 7.1.

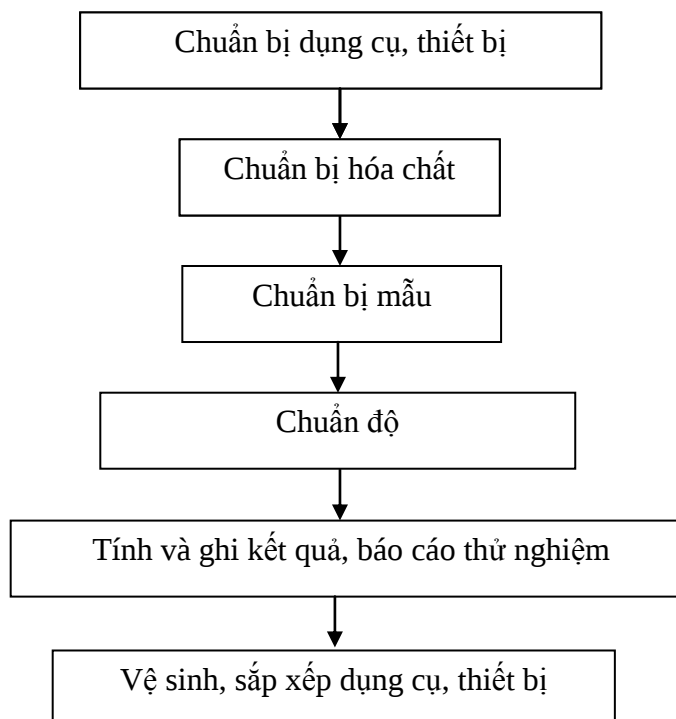
1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị

1.1. Dụng cụ, thiết bị

Các dụng cụ, thiết bị cần chuẩn bị:

- Chai có nút dung tích 100ml
- Phễu thủy tinh $\phi = 3-4\text{cm}$
- Bình định mức 100ml, ống nhỏ giọt
- Cốc thủy tinh 100ml
- Bình nón 250ml
- Bóp cao su, pipet 10ml- 50ml
- Bộ chuẩn độ: buret 25ml, bình nón, chân giá sắt, kẹp còng cua

- Bình tia, ống nhỏ giọt
- Cân phân tích



Hình 7.1. Quy trình xác định hàm lượng oxy hòa tan trong nước

1.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Chuẩn bị và kiểm tra các dụng cụ	- Chai có nút dung tích 100ml - Phễu thủy tinh $\phi = 3-4\text{cm}$- - Bình định mức 100ml - Cốc thủy tinh 100ml - Bình nón 250ml - Bóp cao su, pipet - Bộ chuẩn độ: buret 25ml, bình nón, chân giá sắt, kẹp càng cua - Bình tia, ống nhỏ giọt	- Sạch sẽ, không có vết nứt, sử dụng tốt - Buret phải được rửa sạch và tráng kỹ bằng nước cất
2	Chuẩn bị cân phân tích	- Cân phân tích - Tài liệu kỹ thuật hướng dẫn	Cân phân tích phải được kiểm tra và trong tình trạng hoạt động tốt

1.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Thao tác kiểm tra dụng cụ và thiết bị phải đúng theo hướng dẫn

- Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác.

- Chú ý về an toàn điện khi kiểm tra các thiết bị.

1.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Bể vỡ dụng cụ	Để chung dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ, kim loại	Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ và kim loại khác
2	Cân phân tích: màn hình không hiện “0.0000g” khi khởi động cân	Do đặt cân không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật	Phải được kiểm tra và điều chỉnh theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật

2. Chuẩn bị hóa chất

2.1. Hóa chất

a. Các hóa chất cần chuẩn bị:

- MnSO_4
- KOH
- KI
- NaN_3
- Acid sunfuric đậm đặc
- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

b. Cách pha các dung dịch:

- Dung dịch MnSO_4 : Hòa tan 240g $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ trong nước cất thành 500ml dung dịch
- Dung dịch Iodide –Azide kiềm: Hòa tan 350g KOH (hay 250g NaOH) và 75g KI trong nước cất, hòa tan thành 500ml. Thêm vào dung dịch này 5g NaN_3 hòa tan sẵn trong 20ml nước cất, khuấy đều.

- Dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,025N (không sử dụng dung dịch đã pha chế quá 12 giờ)

c. Dụng cụ, thiết bị:

- Bình định mức 500ml, 100ml, cốc thủy tinh, đĩa thủy tinh
- Cân phân tích



Hình 7.2. Bình định mức



Hình 7.3. Cốc thủy tinh



Hình 7.4. Đũa thủy tinh



Hình 7.5. Cân phân tích

2.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Kiểm tra hóa chất	- MnSO_4 - KOH - KI - NaN_3 - Acid sunfuric đậm đặc - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	Hóa chất tinh khiết, còn nhãn, đúng tên gọi Hóa chất còn hạn sử dụng
2	Chuẩn bị dung dịch MnSO_4		
2.1	Cân hóa chất	- Hóa chất $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ được cân chính xác 240g (độ chính xác 10^{-4}g) Hóa chất $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ không được đổ ra ngoài khi pha
2.2	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh - Bếp điện	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ phải được hòa tan hoàn toàn trong nước nóng khi pha
2.3	Định mức	- Bình định mức 500ml - Nước cất	Định mức phải đúng vạch Lắc đều
2.4	Cho dung dịch	- Dung dịch MnSO_4	Dung dịch MnSO_4 sau

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
	MnSO ₄ vào lọ chứa	- Lọ chứa	khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
3	Chuẩn bị dung dịch Iodide –Azide kiềm		
3.1	Cân hóa chất	- Hóa chất KOH và KI tinh khiết - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất KOH được cân chính xác 350g (độ chính xác 10 ⁻⁴ g) Hóa chất KI được cân chính xác 75g (độ chính xác 10 ⁻⁴ g) Hóa chất không được đổ ra ngoài khi cân
3.2	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh	KOH và KI phải được hòa tan hoàn toàn trong nước khi pha
3.3	Thêm hóa chất	- NaN ₃ - Cốc hóa chất trên	Hóa chất NaN ₃ được cân chính xác 350g (độ chính xác 10 ⁻⁴ g) Hòa tan NaN ₃ trong 20ml nước cất Cho dung dịch NaN ₃ vào cốc hóa chất trên.
3.4	Định mức	- Bình định mức 500ml - Nước cất	Chuyển toàn bộ hóa chất vào bình định mức 500ml. Định mức phải đúng vạch Lắc đều
3.5	Cho dung dịch Metyl da cam 0,1% vào lọ chứa	- Dung dịch Metyl da cam 0,1% - Lọ chứa	Dung dịch Metyl da cam 0,1% sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
4	Vệ sinh dụng cụ, cân	- Dụng cụ thủy tinh - Cân phân tích	Các dụng cụ thủy tinh phải rửa sạch và sấy khô ở 105 ⁰ C, 1 giờ Cân phải được vệ sinh theo tài liệu hướng dẫn

2.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất
- Cẩn thận khi tiếp xúc với H₂SO₄ đậm đặc
- Hóa chất pha xong phải đậy kín nút chai
- Natri azid (NaN₃) là chất độc cực mạnh. Nếu biết chắc không có nitrit trong mẫu thì không nên dùng azid (vì nitrit có trong mẫu gây cản trở việc phân tích)

3.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Dung dịch Iodide – Azide kiềm bị hư hỏng	Dung dịch bị phân hủy dưới tác dụng của ánh sáng	Bảo quản dung dịch trong chỗ tối
2	Dung dịch Na ₂ S ₂ O ₃ 0,025N bị hư hỏng	Dung dịch dễ bị phân hủy	Không sử dụng dung dịch đã pha chế quá 12 giờ và bảo quản trong tối.

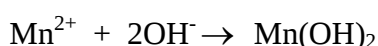
3. Chuẩn bị mẫu

3.1. Phương pháp chuẩn bị mẫu

Lấy mẫu nước theo quy định hiện hành. Chuẩn bị mẫu từ mẫu được bảo quản để xác định độ kiềm của nước.

Hút 100ml mẫu nước phân tích cho vào bình thủy tinh có nút để chuẩn bị tiến hành cố định oxy trong mẫu.

Dựa trên sự oxy hóa Mn²⁺ bởi lượng oxy hòa tan trong nước:



Khi cho MnSO₄ và dung dịch Iodide-Azide kiềm (NaOH + KI) vào mẫu có hai trường hợp xảy ra:

- Nếu không có oxy hiện diện, kết tủa Mn(OH)₂ có màu trắng.
- Nếu mẫu có oxy, một phần Mn²⁺ bị oxy hóa thành Mn⁴⁺, kết tủa có màu nâu. $\text{Mn}^{2+} + 2\text{OH}^- + 1/2\text{O}_2 \rightarrow \text{MnO}_2 + \text{H}_2\text{O}$

Mn^{2+} có khả năng khử I^- thành I_2 tự do trong môi trường acid.

Như vậy lượng I_2 được giải phóng tương đương với lượng oxy hòa tan có trong nước.

3.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Nạp mẫu vào bình	Bình thủy tinh có nút (dung tích 100ml)	Nạp đầy, không còn không khí
2	Cố định oxy trong mẫu	$MnSO_4$, dung dịch Iodide-Azide kiềm	1ml $MnSO_4$, 1ml iodide-azide-kiềm
3	Đậy nút, lắc đảo ngược chai	Bình thủy tinh có nút (dung tích 100ml) đựng các dung dịch trên	Thời gian: ít nhất 20s
4	Để yên	Bình thủy tinh có nút (dung tích 100ml) đựng các dung dịch trên	Đến khi kết tủa lắng hoàn toàn
5	Lắc đều chai thêm 1 lần nữa, để yên	Bình thủy tinh có nút (dung tích 100ml) đựng các dung dịch trên	Vẫn đậy nút
6	Mở nút, thêm H_2SO_4 đậm đặc	Bình thủy tinh có nút (dung tích 100ml) đựng các dung dịch trên, H_2SO_4 đậm đặc	Thể tích H_2SO_4 đậm đặc: 2ml
7	Đậy nút, đảo chai	Bình thủy tinh có nút (dung tích 100ml) đựng các dung dịch trên	Đến khi kết tủa được hòa tan hoàn toàn

3.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất.

- Cần lưu ý khi sử dụng các hóa chất độc và nguy hiểm như H_2SO_4 đậm đặc, dung dịch Iodide-Azide kiềm.

3.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Tạo bóng khí khi cho mẫu nước phân tích vào bình chứa	Còn không khí trong bình	Đổ đầy tràn mẫu nước

4. Chuẩn độ

4.1. Nguyên tắc thực hiện

Chuẩn độ dung dịch mẫu nước phân tích bằng dung dịch chuẩn $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,025N, với chỉ thị hồ tinh bột.

Điểm tương đương là thời điểm dung dịch mất màu hoàn toàn.

Từ lượng số ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.025N tiêu tốn, có thể tính ra hàm lượng oxy hòa tan trong mẫu nước phân tích.

4.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Chuẩn bị dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.025N trên buret	Buret, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.025N	Tráng rửa buret sạch sẽ, đuổi bọt khí, điều chỉnh $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.025N về vạch 0
2	Chuẩn bị dung dịch trong bình tam giác	Bình tam giác, dung dịch mẫu, chỉ thị hồ tinh bột	Hút 20ml dung dịch mẫu trong chai cho vào bình tam giác Chỉ thị hồ tinh bột được cho vào khi màu vàng của dung dịch còn thật nhạt.
3	Chuẩn độ	Buret, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.025N Bình tam giác chứa mẫu và chỉ thị	Điểm tương đương: dung dịch trong bình nón mất màu hoàn toàn
4	Ghi lại số ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.025N tiêu tốn	Bút, sổ ghi chép	Đọc kết quả chính xác 0,05 ml.
5	Lặp lại thí nghiệm lần 2	Buret, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.025N Bình tam giác chứa mẫu và chỉ thị	Đọc kết quả chính xác 0,05 ml. Lấy kết quả trung bình giữa 2 lần chuẩn độ.

4.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định về an toàn lao động khi sử dụng hóa chất.
- Thao tác chuẩn độ thành thạo.

4.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
-----	------------------------	-------------	----------------

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Nâng cao giá trị kết quả	Các tác nhân oxy hóa khác như nitrite, sắt... cũng có thể oxy hóa $2I^- \rightarrow I_2$ đưa đến việc nâng cao trị số kết quả	Xác định hàm lượng chất oxy hóa bằng cách chuẩn độ mẫu thứ hai. Hiệu chỉnh kết quả thu được
2	Làm thấp giá trị kết quả	Các tác nhân khử như Fe^{2+} , sulfite, sulfide... lại oxy hóa $I_2 \rightarrow I^-$ sẽ làm thấp giá trị kết quả	Oxy hóa chất khử ở cả mẫu thứ nhất và mẫu thứ hai bằng cách thêm dư dung dịch natri hypoclorid. Xác định hàm lượng oxy hòa tan trong một mẫu. Xác định lượng dư natri hypoclorid trong mẫu còn lại.

5. Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm

5.1. Công thức tính kết quả

Hàm lượng oxy hòa tan trong nước được tính theo công thức

$$\text{Oxy} = \frac{V_{Na_2S_2O_3} \cdot C_{Na_2S_2O_3} \cdot 8.1000}{V_{mẫu}} ; \text{mgOxy/lít}$$

Trong đó: 8: đương lượng gam của oxy

5.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Tính kết quả	Sổ ghi chép, máy tính	- Tính đúng công thức - Kết quả tính theo mgOxy/lít, được làm tròn đến số lẻ thập phân thứ nhất.
2	Ghi kết quả vào phiếu và sổ lưu	- Phiếu kết quả - Sổ lưu	Ghi chính xác kết quả
3	Báo cáo thử nghiệm	- Mẫu Báo cáo	Báo cáo phải được ghi đầy đủ về: - Phương pháp thử nghiệm - Dụng cụ, thiết bị, hóa chất thử nghiệm - Phương pháp chuẩn bị mẫu

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			- Cách tiến hành - Kết quả thể tích $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.025N tiêu tốn - Kết quả hàm lượng oxy hòa tan trong mẫu nước phân tích - Phân tích các nguyên nhân gây sai số trong quá trình xác định và cách khắc phục.

5.3. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Kết quả xác định hàm lượng oxy hòa tan trong nước không chính xác	Áp dụng chưa đúng công thức tính toán	Kiểm tra công thức và kết quả tính toán

6. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị

6.1. Nguyên tắc thực hiện

a. Phương pháp vệ sinh dụng cụ:

Dụng cụ chủ yếu là thủy tinh, được rửa bằng xà phòng và dùng chổi để lấy chất bẩn trong dụng cụ, sau đó rửa sạch bằng nước máy, cuối cùng tráng qua nước cất. Sau đó, được sấy khô ở nhiệt độ 105°C , 1 giờ.

Đối với hệ thống chưng cất, cần làm nguội rồi mới tháo rời các chi tiết để vệ sinh.

b. Phương pháp vệ sinh các thiết bị:

Cân phân tích: Dùng giấy mềm thấm lau sạch bề mặt cân và xung quanh khu vực cân (theo tài liệu kỹ thuật).

6.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Vệ sinh dụng cụ	- Bình định mức 100ml - Cốc thủy tinh 100ml - Bình nón 250ml - Bóp cao su, pipet - Bộ chuẩn độ: buret 25ml, bình nón, chân giá	Phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích. Dụng cụ thủy tinh phải được sấy khô (105°C, 1 giờ)

		sắt, kẹp cồng cua - Bình tia, ống nhỏ giọt	Sắp xếp theo quy định
3	Vệ sinh, sắp xếp máy, thiết bị	- Cân phân tích	Các bộ phận của cân phải sạch, không được bám mẫu phân tích. Cân được đặt đúng nơi quy định.

6.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Cần thận tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh.
- Cân phân tích phải được ngừng máy, rút dây nguồn, rồi mới được vệ sinh.

6.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Cân bị lỗi	Tắt máy không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Vệ sinh khi chưa tắt cân	Tắt cân theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Phải tắt cân rồi mới được vệ sinh
2	Buret bẩn	Buret chưa được vệ sinh, vẫn còn chứa hóa chất	Đổ hóa chất chuẩn về lại bình chứa. Rửa sạch buret và tráng lại bằng nước cất, treo ngược lên trên giá sắt cho ráo nước.

7. Thực hành xác định hàm lượng oxy hòa tan

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
1	Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị	- Chai có nút dung tích 100ml - Phễu thủy tinh $\phi = 3-4\text{cm}$ - Bình định mức 100ml - Cốc thủy tinh 100ml - Bóp cao su, pipet - Bộ chuẩn độ:	- Dụng cụ sạch, khô và không có vết nứt. - Thiết bị phải được kiểm tra và trong tình trạng hoạt động tốt	- Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác.

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
		buret 25ml, bình nón, chân giá sắt, kẹp càng cua - Cân phân tích		
2	Chuẩn bị hóa chất	Bình định mức, cốc thủy tinh, đĩa thủy tinh; cân phân tích, MnSO_4 , KOH , KI , NaN_3 , Acid sunfuric đậm đặc, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$	- Hóa chất tinh khiết, còn nhãn, đúng tên gọi - Hóa chất còn hạn sử dụng - Các hóa chất pha đúng nồng độ quy định	Cẩn thận khi tiếp xúc với H_2SO_4 đậm đặc và Natri azid (NaN_3) là chất độc cực mạnh
3	Chuẩn bị mẫu	Bình thủy tinh có nút (dung tích 100ml) MnSO_4 , dung dịch Iodide-Azide kiềm	Nạp mẫu vào đầy bình, không còn không khí. Thêm 1ml MnSO_4 , 1ml iodide-azide-kiềm Lắc đảo 20s, để yên đến khi kết tủa lắng hoàn toàn. Thêm 2ml H_2SO_4 đậm đặc, Lắc đều	Cần lưu ý khi sử dụng các hóa chất độc và nguy hiểm như H_2SO_4 đậm đặc, dung dịch Iodide-Azide kiềm
4	Chuẩn độ	Buret, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.025N Bình tam giác, dung dịch mẫu, chỉ thị hồ tinh bột	Tráng rửa buret sạch sẽ, đuổi bọt khí, điều chỉnh $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.025N về vạch 0 - Điểm tương đương: dung dịch trong bình nón mất màu hoàn toàn - Đọc kết quả chính xác 0,05 ml Lấy kết quả trung bình giữa 2 lần chuẩn độ	- Tránh để dung dịch H_2SO_4 0,1N rơi vãi ra ngoài, vì dung dịch này tạo màu rất khó vệ sinh. - Thao tác chuẩn độ thành thạo

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
5	Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm	Sổ ghi chép, máy tính - Phiếu kết quả - Sổ lưu	- Tính đúng công thức - Kết quả tính theo mgOxy/lít, được làm tròn đến số lẻ thập phân thứ nhất. Ghi chính xác kết quả, báo cáo thử nghiệm.	
6	Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị	Dụng cụ thủy tinh Cân phân tích	- Các dụng cụ thủy tinh phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích, phải được sấy khô (105°C , 1 giờ) Các máy, thiết bị được đặt đúng nơi quy định	- Tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh - Cân phân tích phải được ngừng máy rồi mới được vệ sinh.

Bài 8. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG Cl_2 DƯ

Mục tiêu

- Trình bày được nguyên tắc, qui trình tiến hành xác định hàm lượng Cl_2 dư trong nước;
- Lựa chọn đúng thiết bị, dụng cụ và hóa chất cần dùng;
- Thực hiện được các bước xác định hàm lượng Cl_2 dư trong nước theo đúng tiêu chuẩn, trình tự, đảm bảo an toàn và chính xác;
- Phát hiện được các nguyên nhân làm sai lệch kết quả phân tích và khắc phục kịp thời;
- Tính toán và biểu diễn đúng kết quả;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh trong phòng kiểm nghiệm;
- Tuân thủ các qui tắc đảm bảo an toàn lao động trong phòng kiểm nghiệm.

Nguyên tắc xác định hàm lượng Cl_2 dư:

Trong môi trường acid clo kết hợp với O.Tolidin tạo ra một hợp chất có màu vàng, cường độ màu tỷ lệ với nồng độ Cl_2 trong dung dịch có thể xác định bằng cách so màu bằng mắt với cường độ thang màu tiêu chuẩn hoặc đo màu trên máy quang phổ với bước sóng 430 – 440 nm

1. Nguyên lý làm việc của máy quang phổ

Máy quang phổ dùng để phân tích chùm sáng có nhiều thành phần màu sắc thành các đơn sắc khác nhau. Nói cách khác, máy được sử dụng để phân tích, quan sát và xác định các thành phần màu sắc của một chùm sáng.

Nguyên lý máy đo quang phổ khá đơn giản, đó là do hiện tượng phản xạ ánh sáng, nguồn sáng tới ánh sáng trắng bao gồm các tia sáng đơn sắc với những bước sóng khác nhau từ đỏ đến tím chiếu vào vật thể cần quan sát. Sau đó, những tia sáng sẽ phản xạ lại mắt là tia sáng có màu nào thì chúng ta sẽ nhìn thấy màu sắc như thế.

2. Chuẩn bị dụng cụ

Cần chuẩn bị các dụng cụ:

- Ống nghiệm có nắp đậy, bình định mức 100ml
- Đũa thủy tinh, cốc thủy tinh
- Cân phân tích, pipet
- Máy đo quang phổ kèm theo máy vi tính và phần mềm điều khiển
- Cuvet
- Giấy mềm

3. Chuẩn bị hóa chất

Cần chuẩn bị các hóa chất:

- Dung dịch 1: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1,5g, 1ml H_2SO_4 đậm đặc thêm nước cất vừa đủ 100ml.

- Dung dịch 2: bicromate kali ($K_2Cr_2O_7$) 0,025g, 0,1ml H_2SO_4 đậm đặc thêm nước cất vừa đủ 100ml

- Thuốc thử O.Tolidin

4. Tiến hành pha dãy dung dịch chuẩn sử dụng và dung dịch mẫu phân tích

- Tiến hành pha dãy dung dịch tiêu chuẩn theo bảng sau

Ống số	Dung dịch 1 (ml)	Dung dịch 2 (ml)	Nước cất 2 lần (ml)	Hàm lượng Cl_2 tương đương
1	1,8	10	88,2	0,1
2	1,9	20	78,1	0,2
3	1,9	30	68,1	0,3
4	2	38	60	0,4
5	2	45	53	0,5

Chuẩn bị 5 ống nghiệm khô sạch, dùng pipet hút lần lượt các dung dịch 1, dung dịch 2, nước cất 2 lần vào 5 ống nghiệm theo bảng trên

Các gam mẫu sau khi xác định xong cho vào các ống nghiệm có nắp đậy, dán nhãn để dùng xác định Cl_2 tại hiện trường.

Lấy mẫu cần xác định cho vào khoảng 2/3 ống nghiệm

5. Chuyển dung dịch chuẩn và mẫu đã pha chế vào ống đo

Cho thêm vào các ống nghiệm từ 1 đến 5 và ống nghiệm mẫu từ 3 – 5 giọt thuốc thử O.Tolidin, lắc nhẹ ống nghiệm cho dung dịch đồng đều. tiến hành so màu với các dung dịch chuẩn

6. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dãy dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu

Thao tác thực hiện

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Khởi động máy	Máy đo quang phổ Máy vi tính và phần mềm điều khiển	Khởi động máy tính hoàn tất trước khi khởi động máy đo quang phổ Đề 15 phút để máy ổn định Không có cuvet trong máy khi khởi động Máy sẵn sàng hoạt động, không báo lỗi
2	Cài đặt chế độ đo,	Máy đo quang phổ	Chính xác bước sóng

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
	bước sóng		430nm Chế độ đo độ hấp thụ quang (A)
3	Kiểm tra máy với nước cất	Máy đo quang phổ Cuvet Nước cất	Cho cuvet vào đúng khoảng đo của cuvet Kiểm tra độ truyền quang của nước cất, chỉnh máy T = 100% Kiểm tra độ hấp thụ quang của nước cất, chỉnh máy A = 0,000
4	Đo độ hấp thụ quang của dung dịch mẫu thử, mẫu trắng		
	1. Cho dung dịch mẫu thử/mẫu trắng vào cuvet đo	Dung dịch mẫu thử Dung dịch mẫu trắng Cuvet Máy đo quang phổ	Tráng cuvet bằng dung dịch cần đo Không có bọt khí trong cuvet Cuvet lau khô, đặt đúng vị trí vào khoảng đo của máy
	2. Đo độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử/mẫu trắng	Dung dịch mẫu thử Dung dịch mẫu trắng Cuvet Máy đo quang phổ	Đo 3 lần Sau mỗi lần đo chỉnh máy với nước cất Tráng cuvet bằng nước cất ngay sau mỗi lần đo xong một dung dịch
	3. Ghi kết quả	Máy đo quang phổ Sổ ghi chép	Đọc, ghi chính xác Đọc, ghi giá trị đo ngay sau mỗi lần đo Tính giá trị trung bình của các lần đo Độ hấp thụ quang của mẫu là A_M Độ hấp thụ quang của mẫu trắng là A_T

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
5	Đo độ hấp thụ quang của dãy màu tiêu chuẩn		
	1. Cho dung dịch màu của dãy màu chuẩn vào cuvet đo	Dãy màu dung dịch tiêu chuẩn Cuvet Máy đo quang phổ	Tráng cuvet bằng dung dịch cần đo Không có bọt khí trong cuvet Cuvet lau khô, đặt đúng vị trí vào khoang đo của máy
	2. Đo độ hấp thụ của dung dịch màu của dãy màu chuẩn	Dãy màu dung dịch tiêu chuẩn Cuvet Máy đo quang phổ	Đo 3 lần Sau mỗi lần đo chỉnh máy với nước cất
	3. Ghi kết quả	Máy so màu Sổ ghi chép	Đọc, ghi chính xác Đọc, ghi giá trị đo ngay sau mỗi lần đo Tính giá trị trung bình của các lần đo Độ hấp thụ của dãy chuẩn là các giá trị A_1, A_2, A_3, A_4, A_5 (sau khi trừ đi độ hấp thụ của mẫu trắng A_T)

Các chú ý về an toàn lao động

- Không rơi vãi dịch đo.
- Cần thận tránh làm vỡ, trầy xước cuvet.
- Khi vận hành máy đo quang phổ phải chú ý đến an toàn điện, không để dây điện ướt, tay ướt chạm vào ổ điện, phích cắm điện.
- Tuân thủ theo đúng hướng dẫn vận hành máy đo quang phổ.

Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Máy đo quang phổ bị lỗi khi đo	Cuvet còn trong máy so màu khi khởi động	Phải kiểm tra khoang chứa cuvet trước khi

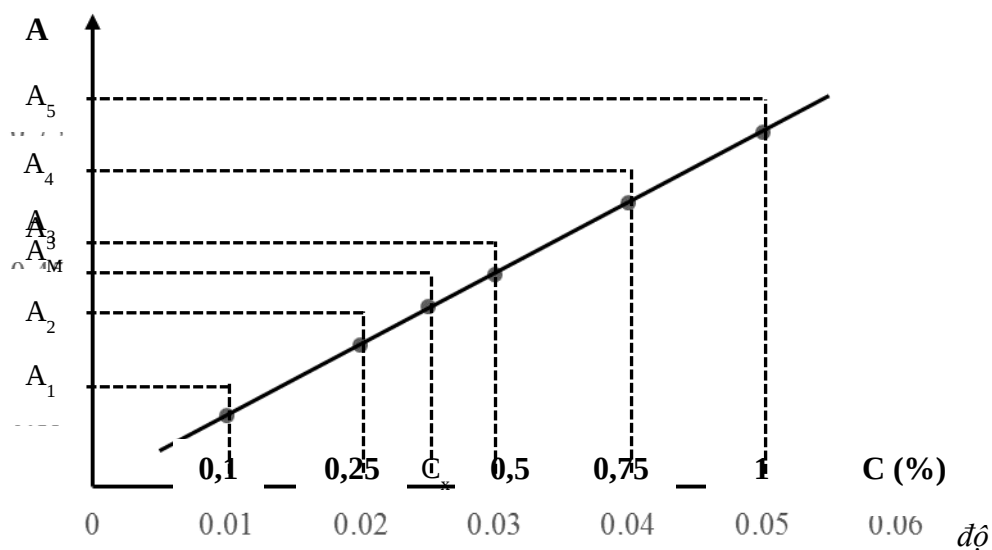
<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
			khởi động
2	Độ hấp thụ thay đổi đáng kể giữa các lần đo	Dùng các cuvet khác nhau giữa các lần đo	Dùng một cuvet cho các lần đo
3	Độ hấp thụ giảm dần	Cuvet có bọt khí	Dùng pipet cho mẫu nhẹ nhàng vào cuvet, tránh tạo bọt khí

7. Lập đường chuẩn

Phương pháp dựng đường chuẩn

Vẽ đồ thị dựa vào mối tương quan giữa độ hấp thụ quang (A) và nồng độ dung dịch dãy chuẩn (C) (nếu máy có phần mềm điều khiển dựng đường chuẩn thì không cần vẽ tay).

Độ hấp thụ của dãy chuẩn là các giá trị được xác định là A_1, A_2, A_3, A_4, A_5 tương ứng với các nồng độ của dung dịch chuẩn là 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 (%). Ta vẽ đường chuẩn có dạng :



Dụng cụ

- Giấy ô ly (không cần nếu máy có phần mềm dựng đường chuẩn)
- Bút, thước

Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Vẽ các trục	Giấy ô ly Bút	Trục tung biểu thị độ hấp thụ quang (A) Trục hoành biểu thị

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
		Thước kẻ	nồng độ dung dịch dãy chuẩn (C) Các trục được chia các khoảng cách, tỷ lệ tương ứng
2	Đặt các giá trị độ hấp thụ của dãy chuẩn tương ứng A_1, A_2, A_3, A_4, A_5 lên trục tung (A)	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Các giá trị A_1, A_2, A_3, A_4, A_5 đã được tính trừ giá trị A_T Các giá trị A_1, A_2, A_3, A_4, A_5 phải được đặt tương ứng với khoảng cách trên trục tung (A)
3	Đặt các giá trị nồng độ dung dịch chuẩn tương ứng với các nồng độ Cl_2 là 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 (%) lên trục hoành (C)	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Các giá trị nồng độ 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 (%) phải được đặt tương ứng với khoảng cách trên trục hoành (C)
4	Xác định các điểm tương ứng A với C	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Các điểm được xác định tương ứng chính xác A_1 với 0,1; A_2 với 0,2; A_3 với 0,3; A_4 với 0,4; A_5 với 0,5
5	Vẽ đường chuẩn	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Đường chuẩn được dựng nằm giữa các điểm Đường chuẩn có dạng tuyến tính, chính xác

Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Đường chuẩn không chính xác	Khoảng cách các giá trị trên các trục không tương ứng Đường chuẩn không nằm giữa các điểm	Vẽ các khoảng cách các giá trị trên các trục tương ứng Dựng đường chuẩn nằm giữa các điểm

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
2	Đường chuẩn không tuyến tính	Các giá trị đo không hợp lý, tăng giảm không đều	Xem xét các giá trị đo, loại bỏ các giá trị đo không phù hợp Đo lại

8. Đọc kết quả

Từ giá trị độ hấp thụ của dung dịch mẫu là A_M , ta xác định hàm lượng Cl_2 dư của dung dịch mẫu thử C_x (%) trên đường chuẩn.

9. Một số nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Đường chuẩn không chính xác	Khoảng cách các giá trị trên các trục không tương ứng Đường chuẩn không nằm giữa các điểm	Vẽ các hoành cách các giá trị trên các trục tương ứng Dựng đường chuẩn nằm giữa các điểm
2	Đường chuẩn không tuyến tính	Các giá trị đo không hợp lý, tăng giảm không đều	Xem xét các giá trị đo, loại bỏ các giá trị đo không phù hợp Đo lại
3	Máy đo quang phổ bị lỗi khi đo	Cuvet còn trong máy so màu khi khởi động	Phải kiểm tra khoang chứa cuvet trước khi khởi động
4	Độ hấp thụ thay đổi đáng kể giữa các lần đo	Dùng các cuvet khác nhau giữa các lần đo	Dùng một cuvet cho các lần đo
5	Độ hấp thụ giảm dần	Cuvet có bọt khí	Dùng pipet cho mẫu nhẹ nhàng vào cuvet, tránh tạo bọt khí

Bài 9. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NO_3^-

Mục tiêu

- Trình bày được nguyên tắc, qui trình tiến hành xác định hàm lượng NO_3^- trong nước;
- Lựa chọn đúng thiết bị, dụng cụ và hóa chất cần dùng;
- Thực hiện được các bước xác định hàm lượng NO_3^- trong nước theo đúng tiêu chuẩn, trình tự, đảm bảo an toàn và chính xác;
- Phát hiện được các nguyên nhân làm sai lệch kết quả phân tích và khắc phục kịp thời;
- Tính toán và biểu diễn đúng kết quả;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh trong phòng kiểm nghiệm;
- Tuân thủ các qui tắc đảm bảo an toàn lao động trong phòng kiểm nghiệm.

Nguyên tắc xác định hàm lượng NO_3^- :

Trong môi trường NH_4OH đậm đặc, nitrat phản ứng với phenol disunfophenic tạo thành hợp chất phenol-6-nitro-2,4-Disunfonic. Chất này có màu vàng trong môi trường kiềm. Cường độ màu tỉ lệ với nồng độ nitrat đến 5mg/l, độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 410nm.

Để tạo điều kiện phản ứng trong acid đậm đặc người ta cô cạn nước thử và cho thuốc thử phản ứng với cặn khô.

1. Nguyên lý làm việc của máy quang phổ

Máy quang phổ dùng để phân tích chùm sáng có nhiều thành phần màu sắc thành các đơn sắc khác nhau. Nói cách khác, máy được sử dụng để phân tích, quan sát và xác định các thành phần màu sắc của một chùm sáng.

Nguyên lý máy đo quang phổ khá đơn giản, đó là do hiện tượng phản xạ ánh sáng, nguồn sáng tới ánh sáng trắng bao gồm các tia sáng đơn sắc với những bước sóng khác nhau từ đỏ đến tím chiếu vào vật thể cần quan sát. Sau đó, những tia sáng sẽ phản xạ lại mắt là tia sáng có màu nào thì chúng ta sẽ nhìn thấy màu sắc như thế.

2. Chuẩn bị dụng cụ

Cần chuẩn bị các dụng cụ:

- Cuvet 1-4cm, bếp cách thủy, chén sứ hay thủy tinh 50ml
- Ống đong 25ml và 50 ml, đĩa thủy tinh, pipet 1ml và 10ml
- Máy đo quang phổ kèm theo máy vi tính và phần mềm điều khiển
- Giấy mềm

3. Chuẩn bị hóa chất

Cần chuẩn bị các hóa chất:

- Dung dịch Nitrat chuẩn 1ml, dung dịch phenol disunfophenic

- Dung dịch NH_4OH đậm đặc

- Nước cất

4. Tiến hành pha dãy dung dịch chuẩn sử dụng và dung dịch mẫu phân tích

Dùng 10 ống Netsle ghi số thứ tự từ 1-10 và cho vào từng ống nghiệm các thuốc thử theo bảng dưới đây

Ống số	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dd NO_3^- 1ml=0,005mg	0	1	2	3	4	6	8	10	15
Nước cất 2 lần không nitrat (ml)	50	49	48	47	46	44	42	40	35
Amoniac đặc (ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5
mg/ NO_3^- /50ml	0	0,005	0,01	0,015	0,02	0,03	0,04	0,05	0,075
Nồng độ NO_3^- (mg/l)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8	1	1,5

Chuẩn bị 9 ống nghiệm khô sạch, dùng pipet hút lần lượt dung dịch chuẩn NO_3^- và nước cất 2 lần vào 9 ống nghiệm theo bảng trên.

Chuẩn bị mẫu: Cho vào chén sứ 50ml nước thử đun cách thủy cho đến khi cạn khô. Thấm ướt cạn khô trong chén bằng 1ml dung dịch phenol disunfophenic. Dùng đũa thủy tinh cọ cho tan hết. Thêm 5-10ml nước cất, 5ml NH_4OH . Dung dịch sẽ có màu vàng nếu có nitrat. Chú ý: dung dịch lúc này phải có tính kiềm rõ.

Chuyển vào ống lượng 50ml, tráng chén bằng nước cất và dồn hết vào ống thêm nước đến 50ml.

5. Chuyển dung dịch chuẩn và mẫu đã pha chế vào ống đo

Cho thêm vào các ống nghiệm từ 1 đến 9 các hoá chất tương tự với mẫu thử, lắc nhẹ ống nghiệm cho dung dịch đồng đều.

6. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dãy dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu

Thao tác thực hiện

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Khởi động máy	Máy đo quang phổ Máy vi tính và phần mềm điều khiển	Khởi động máy tính hoàn tất trước khi khởi động máy đo quang phổ Đề 15 phút để máy ổn định

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			Không có cuvet trong máy khi khởi động Máy sẵn sàng hoạt động, không báo lỗi
2	Cài đặt chế độ đo, bước sóng	Máy đo quang phổ	Chính xác bước sóng 430nm Chế độ đo độ hấp thụ quang (A)
3	Kiểm tra máy với nước cất	Máy đo quang phổ Cuvet Nước cất	Cho cuvet vào đúng khoang đo của cuvet Kiểm tra độ truyền quang của nước cất, chỉnh máy T = 100% Kiểm tra độ hấp thụ quang của nước cất, chỉnh máy A = 0,000
4	Đo độ hấp thụ quang của dung dịch mẫu thử, mẫu trắng		
	1. Cho dung dịch mẫu thử/mẫu trắng vào cuvet đo	Dung dịch mẫu thử Dung dịch mẫu trắng Cuvet Máy đo quang phổ	Tráng cuvet bằng dung dịch cần đo Không có bọt khí trong cuvet Cuvet lau khô, đặt đúng vị trí vào khoang đo của máy
	2. Đo độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử/mẫu trắng	Dung dịch mẫu thử Dung dịch mẫu trắng Cuvet Máy đo quang phổ	Đo 3 lần Sau mỗi lần đo chỉnh máy với nước cất Tráng cuvet bằng nước cất ngay sau mỗi lần đo xong một dung dịch
	3. Ghi kết quả	Máy đo quang phổ Sổ ghi chép	Đọc, ghi chính xác Đọc, ghi giá trị đo ngay sau mỗi lần đo Tính giá trị trung bình của các lần đo

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			Độ hấp thụ quang của mẫu là A_M Độ hấp thụ quang của mẫu trắng là A_T
5	Đo độ hấp thụ quang của dãy màu tiêu chuẩn		
	1. Cho dung dịch màu của dãy màu chuẩn vào cuvet đo	Dãy màu dung dịch tiêu chuẩn Cuvet Máy đo quang phổ	Tráng cuvet bằng dung dịch cần đo Không có bọt khí trong cuvet Cuvet lau khô, đặt đúng vị trí vào khoang đo của máy
	2. Đo độ hấp thụ của dung dịch màu của dãy màu chuẩn	Dãy màu dung dịch tiêu chuẩn Cuvet Máy đo quang phổ	Đo 3 lần Sau mỗi lần đo chỉnh máy với nước cất
	3. Ghi kết quả	Máy so màu Sổ ghi chép	Đọc, ghi chính xác Đọc, ghi giá trị đo ngay sau mỗi lần đo Tính giá trị trung bình của các lần đo Độ hấp thụ của dãy chuẩn là các giá trị A_1 , đến A_9 (sau khi trừ đi độ hấp thụ của mẫu trắng A_T)

Các chú ý về an toàn lao động

- Không rơi vãi dịch đo.
- Cần thận tránh làm vỡ, trầy xước cuvet.
- Khi vận hành máy đo quang phổ phải chú ý đến an toàn điện, không để dây điện ướt, tay ướt chạm vào ổ điện, phích cắm điện.
- Tuân thủ theo đúng hướng dẫn vận hành máy đo quang phổ.

Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

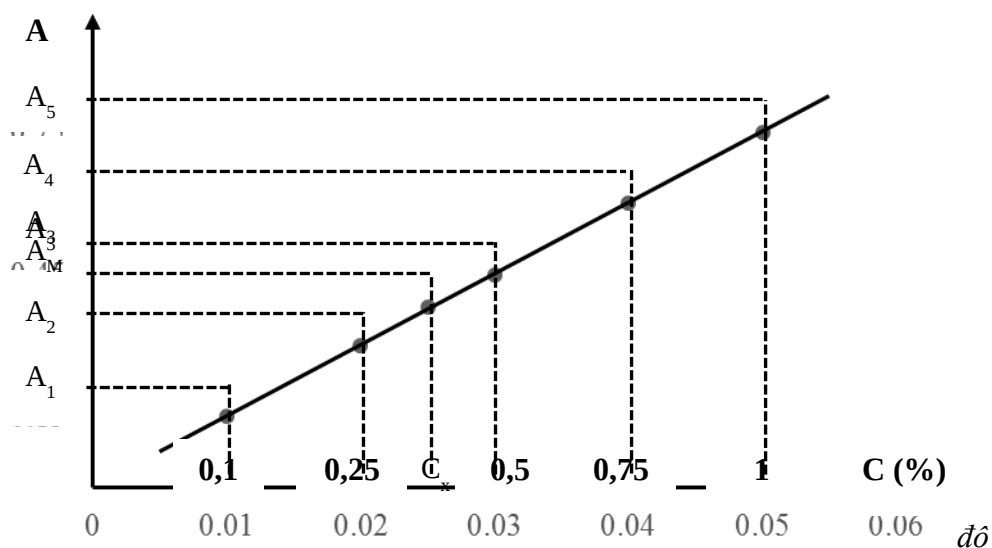
<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Máy đo quang phổ bị lỗi khi đo	Cuvet còn trong máy so màu khi khởi động	Phải kiểm tra khoang chứa cuvet trước khi khởi động
2	Độ hấp thụ thay đổi đáng kể giữa các lần đo	Dùng các cuvet khác nhau giữa các lần đo	Dùng một cuvet cho các lần đo
3	Độ hấp thụ giảm dần	Cuvet có bọt khí	Dùng pipet cho mẫu nhẹ nhàng vào cuvet, tránh tạo bọt khí

7. Lập đường chuẩn

Phương pháp dựng đường chuẩn

Vẽ đồ thị dựa vào mối tương quan giữa độ hấp thụ quang (A) và nồng độ dung dịch dãy chuẩn (C) (nếu máy có phần mềm điều khiển dựng đường chuẩn thì không cần vẽ tay).

Độ hấp thụ của dãy chuẩn là các giá trị được xác định là A_1 đến A_9 tương ứng với các nồng độ của dung dịch NO_3^- chuẩn là 0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 ; 1,5 (%). Ta vẽ đường chuẩn có dạng :



Dụng cụ

- Giấy ô ly (không cần nếu máy có phần mềm dựng đường chuẩn)
- Bút, thước

Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
------------	-------------------------	----------------------------------	-------------------------

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Vẽ các trục	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Trục tung biểu thị độ hấp thụ quang (A) Trục hoành biểu thị nồng độ dung dịch dye chuẩn (C) Các trục được chia các khoảng cách, tỷ lệ tương ứng
2	Đặt các giá trị độ hấp thụ của dye chuẩn tương ứng 0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 ; 1,5 (%). lên trục tung (A)	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Các giá trị A_1 đến A_9 đã được tính trừ giá trị A_T Các giá trị A_1 đến A_9 phải được đặt tương ứng với khoảng cách trên trục tung (A)
3	Đặt các giá trị nồng độ dung dịch chuẩn tương ứng với các nồng độ NO_3^- chuẩn là 0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 ; 1,5 (%). lên trục hoành (C)	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Các giá trị nồng độ 0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 ; 1,5 (%). phải được đặt tương ứng với khoảng cách trên trục hoành (C)
4	Xác định các điểm tương ứng A với C	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Các điểm được xác định tương ứng chính xác A_1 với 0,1; A_2 với 0,2; A_3 với 0,3; A_4 với 0,4; A_5 với 0,6...
5	Vẽ đường chuẩn	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Đường chuẩn được dựng nằm giữa các điểm Đường chuẩn có dạng tuyến tính, chính xác

Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Đường chuẩn không	Khoảng cách các giá trị trên	Vẽ các khoảng cách các

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
	chính xác	các trục không tương ứng Đường chuẩn không nằm giữa các điểm	giá trị trên các trục tương ứng Dựng đường chuẩn nằm giữa các điểm
2	Đường chuẩn không tuyến tính	Các giá trị đo không hợp lý, tăng giảm không đều	Xem xét các giá trị đo, loại bỏ các giá trị đo không phù hợp Đo lại

8. Đọc kết quả

Từ giá trị độ hấp thụ của dung dịch mẫu là A_M , ta xác định hàm lượng NO_3^- của dung dịch mẫu thử C_x (%) trên đường chuẩn.

9. Một số nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Đường chuẩn không chính xác	Khoảng cách các giá trị trên các trục không tương ứng Đường chuẩn không nằm giữa các điểm	Vẽ các hoảnh cách các giá trị trên các trục tương ứng Dựng đường chuẩn nằm giữa các điểm
2	Đường chuẩn không tuyến tính	Các giá trị đo không hợp lý, tăng giảm không đều	Xem xét các giá trị đo, loại bỏ các giá trị đo không phù hợp Đo lại
3	Máy đo quang phổ bị lỗi khi đo	Cuvet còn trong máy so màu khi khởi động	Phải kiểm tra khoang chứa cuvet trước khi khởi động
4	Độ hấp thụ thay đổi đáng kể giữa các lần đo	Dùng các cuvet khác nhau giữa các lần đo	Dùng một cuvet cho các lần đo
5	Độ hấp thụ giảm dần	Cuvet có bọt khí	Dùng pipet cho mẫu nhẹ nhàng vào cuvet, tránh tạo bọt khí

Bài 10. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG SẮT

Mục tiêu

- Trình bày được nguyên tắc, qui trình tiến hành xác định hàm lượng sắt trong nước;
- Lựa chọn đúng thiết bị, dụng cụ và hóa chất cần dùng;
- Thực hiện được các bước xác định hàm lượng sắt trong nước theo đúng tiêu chuẩn, trình tự, đảm bảo an toàn và chính xác;
- Phát hiện được các nguyên nhân làm sai lệch kết quả phân tích và khắc phục kịp thời;
- Tính toán và biểu diễn đúng kết quả;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh trong phòng kiểm nghiệm;
- Tuân thủ các qui tắc đảm bảo an toàn lao động trong phòng kiểm nghiệm.

Nguyên tắc xác định hàm lượng sắt:

Ở pH 2 – 3,5, sắt ở dạng khử Fe^{2+} tác dụng với O.phenantrolin hay còn gọi là 1,10-phenantrolin tạo thành phức màu đỏ cam tuân theo định luật Lambert-Beer. Độ màu của phức tỷ lệ thuận với nồng độ sắt đã phản ứng. màu của phức bền trong 6 tháng.

1. Nguyên lý làm việc của máy quang phổ

Máy quang phổ dùng để phân tích chùm sáng có nhiều thành phần màu sắc thành các đơn sắc khác nhau. Nói cách khác, máy được sử dụng để phân tích, quan sát và xác định các thành phần màu sắc của một chùm sáng.

Nguyên lý máy đo quang phổ khá đơn giản, đó là do hiện tượng phản xạ ánh sáng, nguồn sáng tới ánh sáng trắng bao gồm các tia sáng đơn sắc với những bước sóng khác nhau từ đỏ đến tím chiếu vào vật thể cần quan sát. Sau đó, những tia sáng sẽ phản xạ lại mắt là tia sáng có màu nào thì chúng ta sẽ nhìn thấy màu sắc như thế.

2. Chuẩn bị dụng cụ

Cần chuẩn bị các dụng cụ:

- + Máy so màu, kính lọc bước sóng 510nm, cuvet 1cm hay lớn hơn
- + Ống nghiệm
- + Cuvet
- + Giấy mềm

3. Chuẩn bị hóa chất

Cần chuẩn bị các hóa chất:

- + HCl đậm đặc, không có sắt
- + Dung dịch hydroxylamin 10%
- + Dung dịch đậm acetic acid
- + Dung dịch O.phenantrolin 0,1%
- + Nước cất

4. Tiến hành pha dãy dung dịch chuẩn sử dụng và dung dịch mẫu phân tích

Hút 10ml mẫu cho vào ống nghiệm, nếu dung dịch mẫu có nồng độ sắt lớn hơn 500 μg thì lấy thể tích ít hơn pha loãng đến thể tích cần xác định. Thêm 0,2ml acid HCl đậm đặc và đun nóng trên ngọn lửa đèn cồn thấy nổi bọt khí thì dừng.

Ống số	1	2	3	4	5	6
Dd Fe^{2+} 1ml=10 μg =0,01mg (ml)	0	0,25	0,5	2,5	10	25
Nước cất 2 lần (ml)	50	49,75	49,5	47,5	40	25
Thuốc thử O.phenantrolin (ml)	1	1	1	1	1	1
mg Fe^{2+} /50ml (ml)	0	0,0025	0,005	0,025	0,1	0,25
Nồng độ Fe^{2+} /(mg/l)	0	0,05	0,1	0,5	2	5

Chuẩn bị 6 ống nghiệm khô sạch, dùng pipet hút lần lượt dung dịch chuẩn Fe^{2+} và nước cất 2 lần, thuốc thử O.phenantrolin vào 6 ống nghiệm theo bảng trên.

5. Chuyển dung dịch chuẩn và mẫu đã pha chế vào ống đo

Cho tiếp vào ống nghiệm mẫu 0,5ml acid acetic, 1ml dung dịch hydroxylamin 10%, 1ml dung dịch O.phenantrolin 0,1%, lắc mạnh và để yên trong 10 – 15 phút cho màu ổn định rồi đo mật độ quang.

6. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dãy dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu

Thao tác thực hiện

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Khởi động máy	Máy đo quang phổ Máy vi tính và phần mềm điều khiển	Khởi động máy tính hoàn tất trước khi khởi động máy đo quang phổ Đề 15 phút để máy ổn định Không có cuvet trong máy khi khởi động Máy sẵn sàng hoạt động, không báo lỗi
2	Cài đặt chế độ đo, bước sóng	Máy đo quang phổ	Chính xác bước sóng 430nm Chế độ đo độ hấp thụ quang (A)

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
3	Kiểm tra máy với nước cất	Máy đo quang phổ Cuvet Nước cất	Cho cuvet vào đúng khoang đo của cuvet Kiểm tra độ truyền quang của nước cất, chỉnh máy $T = 100\%$ Kiểm tra độ hấp thụ quang của nước cất, chỉnh máy $A = 0,000$
4	Đo độ hấp thụ quang của dung dịch mẫu thử, mẫu trắng		
	1. Cho dung dịch mẫu thử/mẫu trắng vào cuvet đo	Dung dịch mẫu thử Dung dịch mẫu trắng Cuvet Máy đo quang phổ	Tráng cuvet bằng dung dịch cần đo Không có bọt khí trong cuvet Cuvet lau khô, đặt đúng vị trí vào khoang đo của máy
	2. Đo độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử/mẫu trắng	Dung dịch mẫu thử Dung dịch mẫu trắng Cuvet Máy đo quang phổ	Đo 3 lần Sau mỗi lần đo chỉnh máy với nước cất Tráng cuvet bằng nước cất ngay sau mỗi lần đo xong một dung dịch
	3. Ghi kết quả	Máy đo quang phổ Sổ ghi chép	Đọc, ghi chính xác Đọc, ghi giá trị đo ngay sau mỗi lần đo Tính giá trị trung bình của các lần đo Độ hấp thụ quang của mẫu là A_M Độ hấp thụ quang của mẫu trắng là A_T
5	Đo độ hấp thụ quang của dãy màu tiêu chuẩn		
	1. Cho dung dịch màu của dãy màu	Dãy màu dung dịch tiêu chuẩn	Tráng cuvet bằng dung dịch cần đo

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
	chuẩn vào cuvet đo	Cuvet Máy đo quang phổ	Không có bọt khí trong cuvet Cuvet lau khô, đặt đúng vị trí vào khoang đo của máy
	2. Đo độ hấp thụ của dung dịch màu của dãy màu chuẩn	Dãy màu dung dịch tiêu chuẩn Cuvet Máy đo quang phổ	Đo 3 lần Sau mỗi lần đo chỉnh máy với nước cất
	3. Ghi kết quả	Máy so màu Sổ ghi chép	Đọc, ghi chính xác Đọc, ghi giá trị đo ngay sau mỗi lần đo Tính giá trị trung bình của các lần đo Độ hấp thụ của dãy chuẩn là các giá trị A_1 , đến A_6 (sau khi trừ đi độ hấp thụ của mẫu trắng A_T)

Các chú ý về an toàn lao động

- Không rơi vãi dịch đo.
- Cần thận tránh làm vỡ, trầy xước cuvet.
- Khi vận hành máy đo quang phổ phải chú ý đến an toàn điện, không để dây điện ướt, tay ướt chạm vào ổ điện, phích cắm điện.
- Tuân thủ theo đúng hướng dẫn vận hành máy đo quang phổ.

Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Máy đo quang phổ bị lỗi khi đo	Cuvet còn trong máy so màu khi khởi động	Phải kiểm tra khoang chứa cuvet trước khi khởi động
2	Độ hấp thụ thay đổi đáng kể giữa các lần đo	Dùng các cuvet khác nhau giữa các lần đo	Dùng một cuvet cho các lần đo

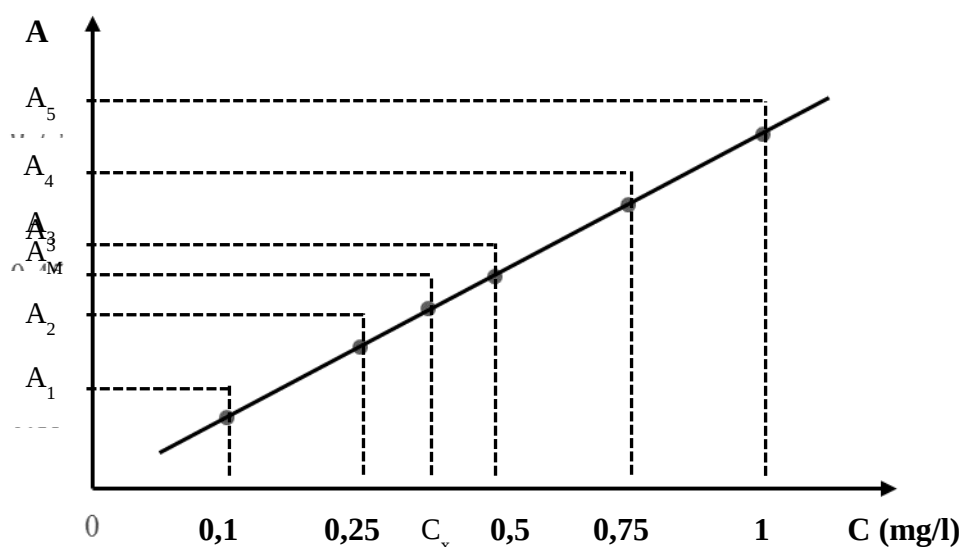
<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
3	Độ hấp thụ giảm dần	Cuvet có bọt khí	Dùng pipet cho mẫu nhẹ nhàng vào cuvet, tránh tạo bọt khí

7. Lập đường chuẩn

Phương pháp dựng đường chuẩn

Vẽ đồ thị dựa vào mối tương quan giữa độ hấp thụ quang (A) và nồng độ dung dịch dãy chuẩn (C) (nếu máy có phần mềm điều khiển dựng đường chuẩn thì không cần vẽ tay).

Độ hấp thụ của dãy chuẩn là các giá trị được xác định là A_1 đến A_9 tương ứng với các nồng độ của dung dịch Fe^{2+} chuẩn là 0 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 ; 2 ; 5 (mg/l). Ta vẽ đường chuẩn có dạng :



Hình 10.1. Đường chuẩn biểu thị sự phụ thuộc độ hấp thụ quang vào nồng độ

Dụng cụ

- Giấy ô ly (không cần nếu máy có phần mềm dựng đường chuẩn)
- Bút, thước

Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Vẽ các trục	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Trục tung biểu thị độ hấp thụ quang (A) Trục hoành biểu thị nồng độ dung dịch dãy chuẩn (C) Các trục được chia các

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			khoảng cách, tỷ lệ tương ứng
2	Đặt các giá trị độ hấp thụ của dãy chuẩn tương ứng Fe^{2+} chuẩn là 0 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 ; 2 ; 5 (mg/l). lên trục tung (A)	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Các giá trị A_1 đến A_6 đã được tính trừ giá trị A_T Các giá trị A_1 đến A_6 phải được đặt tương ứng với khoảng cách trên trục tung (A)
3	Đặt các giá trị nồng độ dung dịch chuẩn tương ứng với các nồng độ Fe^{2+} chuẩn là 0 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 ; 2 ; 5 (mg/l). lên trục hoành (C)	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Các giá trị nồng độ 0 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 ; 2 ; 5 (mg/l). phải được đặt tương ứng với khoảng cách trên trục hoành (C)
4	Xác định các điểm tương ứng A với C	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Các điểm được xác định tương ứng chính xác A_1 với 0; A_2 với 0,05; A_3 với 0,1; A_4 với 0,5; A_5 với 2, A_6 với 5
5	Vẽ đường chuẩn	Giấy ô ly Bút Thước kẻ	Đường chuẩn được dựng nằm giữa các điểm Đường chuẩn có dạng tuyến tính, chính xác

Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Đường chuẩn không chính xác	Khoảng cách các giá trị trên các trục không tương ứng Đường chuẩn không nằm giữa các điểm	Vẽ các khoảng cách các giá trị trên các trục tương ứng Dựng đường chuẩn nằm giữa các điểm
2	Đường chuẩn không tuyến tính	Các giá trị đo không hợp lý, tăng giảm không đều	Xem xét các giá trị đo, loại bỏ các giá trị đo

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
			không phù hợp Đo lại

8. Đọc kết quả

Từ giá trị độ hấp thụ của dung dịch mẫu là A_M , ta xác định hàm lượng Fe^{2+} của dung dịch mẫu thử C_x (%) trên đường chuẩn.

9. Một số nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Đường chuẩn không chính xác	Khoảng cách các giá trị trên các trục không tương ứng Đường chuẩn không nằm giữa các điểm	Vẽ các hoành cách các giá trị trên các trục tương ứng Dùng đường chuẩn nằm giữa các điểm
2	Đường chuẩn không tuyến tính	Các giá trị đo không hợp lý, tăng giảm không đều	Xem xét các giá trị đo, loại bỏ các giá trị đo không phù hợp Đo lại
3	Máy đo quang phổ bị lỗi khi đo	Cuvet còn trong máy so màu khi khởi động	Phải kiểm tra khoang chứa cuvet trước khi khởi động
4	Độ hấp thụ thay đổi đáng kể giữa các lần đo	Dùng các cuvet khác nhau giữa các lần đo	Dùng một cuvet cho các lần đo
5	Độ hấp thụ giảm dần	Cuvet có bọt khí	Dùng pipet cho mẫu nhẹ nhàng vào cuvet, tránh tạo bọt khí

Bài 11. XÁC ĐỊNH ĐỘ OXY HÓA

Mục tiêu

- Trình bày được nguyên tắc, qui trình tiến hành xác định độ oxy hóa của nước;
- Lựa chọn đúng thiết bị, dụng cụ và hóa chất cần dùng;
- Thực hiện được các bước xác định độ oxy hóa của nước theo đúng tiêu chuẩn, trình tự, đảm bảo an toàn và chính xác;
- Phát hiện được các nguyên nhân làm sai lệch kết quả phân tích và khắc phục kịp thời;
- Tính toán và biểu diễn đúng kết quả;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh trong phòng kiểm nghiệm;
- Tuân thủ các qui tắc đảm bảo an toàn lao động trong phòng kiểm nghiệm.

1. Khái niệm độ oxy hóa của nước

Độ oxy hóa của nước (COD) là lượng oxy có trong Kali pemanganat (KMnO_4) đã dùng để oxy hoá chất hữu cơ trong nước, chỉ ra lượng oxy tiêu thụ để oxy hóa 1 lít nước. Đơn vị đo là mg/l.

Hàm lượng chất hữu cơ:

≤ 2 mg/l: nước sạch

Từ 2-3 mg/l: tạm được

Trên 3 mg/l: không đảm bảo vệ sinh

2. Nguyên tắc xác định độ oxy hóa của nước

Cho vào nước một lượng thừa dung dịch tiêu chuẩn KMnO_4 và H_2SO_4 hoặc natri bicacbonat để tạo môi trường phản ứng acid hoặc kiềm.

Đun sôi nước 10 phút và sau đó với acid oxalic như là một chất khử, ta chuẩn độ ngược để biết lượng KMnO_4 đã tiêu hao trong phản ứng trên.

3. Qui trình xác định độ oxy hóa của nước

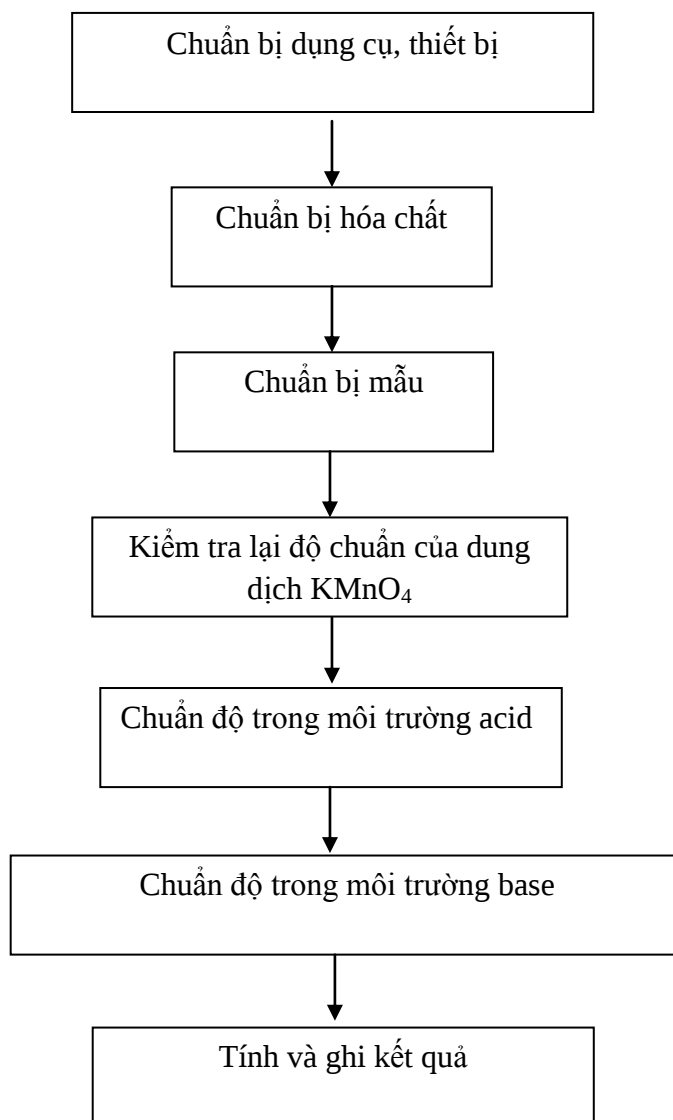
Quy trình xác định độ oxy hóa của nước thể hiện như hình 11.1.

3.1. Chuẩn bị thiết bị, dụng cụ

Cần chuẩn bị các dụng cụ, thiết bị sau :

- + Bình cầu 500ml
- + Bếp đun bình cầu
- + Đồng hồ
- + Bếp điện
- + Buret
- + Bình tam giác 250ml

+ Pipet 10ml khắc vạch



Hình 11.1. Quy trình xác định hàm lượng clorua trong nước

3.2. Chuẩn bị hóa chất

Cần chuẩn bị các hóa chất sau:

- + H₂SO₄ đậm đặc
- + Dung dịch chuẩn KMnO₄ 0,02N
- + Dung dịch oxalic acid 0,02N

3.3. Chuẩn bị mẫu

Hút chính xác 100ml mẫu nước cần phân tích cho vào bình nón, tùy vào môi trường tiến hành chuẩn độ mà có cách xử lý khác nhau.

3.4. Kiểm tra lại độ chuẩn của dung dịch KMnO₄

Trước khi tiến hành kiểm nghiệm mẫu, cần kiểm tra lại độ chuẩn của dung dịch KMnO₄ 0,02N bằng dung dịch oxalic acid 0,02N

3.5. Chuẩn độ trong môi trường acid

Trong bình nón dung tích 250ml, lấy chính xác 100ml mẫu nước. Acid hóa bằng H_2SO_4 đậm đặc hoặc H_2SO_4 1:3. Thêm 10ml dung dịch KMnO_4 0,02N.

Đun sôi, duy trì dung dịch sôi trong 10 phút. Lấy bình ra thêm tức khắc 10ml dung dịch oxalic acid 0,02N. Chuẩn độ oxalic acid dư bằng dung dịch KMnO_4 0,02N đến khi xuất hiện màu hồng nhạt.

Ghi số ml dung dịch KMnO_4 đã chuẩn hết là (n) ml.

Tiến hành song song một mẫu trắng với nước cất, ghi kết quả dung dịch KMnO_4 0,02N đã chuẩn hết là (n_1) ml.

3.6. Chuẩn độ trong môi trường base

Lấy chính xác 100ml mẫu nước, thêm 10ml NaHCO_3 12%, thêm 10ml dung dịch KMnO_4 0,02N.

Đun sôi, duy trì dung dịch sôi trong 10 phút. Thêm 5ml dung dịch acid H_2SO_4 1:3 và 10ml dung dịch oxalic acid 0,02N.

Chuẩn độ oxalic acid dư bằng dung dịch KMnO_4 0,02N đến khi xuất hiện màu hồng nhạt.

Song song thực hiện một mẫu trắng với nước cất.

3.7. Tính kết quả

Lượng oxy tiêu thụ để oxy hóa mẫu nước (mg/l):

$$O_{xy} = \frac{(n - n_1) \cdot 0,02 \cdot 8 \cdot 1000}{V}$$

Trong đó:

n: Thể tích KMnO_4 0,02N để chuẩn độ mẫu kiểm nghiệm (ml)

n_1 : Thể tích KMnO_4 0,02N để chuẩn độ mẫu trắng (ml)

8: Số mg oxy do 1ml dung dịch KMnO_4 giải phóng ra

V: Thể tích mẫu nước kiểm nghiệm (ml)

Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả: Các chất khử trong nước làm tăng độ oxy hóa như NH_4^+ , ion Fe^{2+} , sulfua, NO^- , loại bỏ bằng sulfuric acid và so với mẫu trắng.

4. Thực hành xác định độ oxy hóa của nước

Bài 12. XÁC ĐỊNH TỔNG CHẤT RẮN HÒA TAN

Mục tiêu

- Trình bày được nguyên tắc, qui trình tiến hành xác định tổng chất rắn hòa tan trong nước;
- Lựa chọn đúng thiết bị, dụng cụ và hóa chất cần dùng;
- Thực hiện được các bước xác định tổng chất rắn hòa tan trong nước theo đúng tiêu chuẩn, trình tự, đảm bảo an toàn và chính xác;
Phát hiện được các nguyên nhân làm sai lệch kết quả phân tích và khắc phục kịp thời;
- Tính toán và biểu diễn đúng kết quả;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, ý thức bảo vệ dụng cụ, trang thiết bị, giữ vệ sinh trong phòng kiểm nghiệm;
- Tuân thủ các qui tắc đảm bảo an toàn lao động trong phòng kiểm nghiệm.

1. Khái niệm tổng chất rắn hòa tan trong nước

Tổng chất rắn hòa tan (TDS- Total desolved solids) là một phép đo nội dung tổ hợp của tổng lượng vật chất hữu cơ và vô cơ hòa tan trong nước (có kích thước nhỏ hơn $1\text{nm}=10^{-9}\text{m}$).

Tổng chất rắn hòa tan (TDS) được phân biệt với tổng chất rắn lơ lửng (TSS), trong đó chất rắn lơ lửng không thể lọt qua mắt sàng hai micromet và vẫn còn lơ lửng vô hạn định trong dung dịch.

Xác định tổng chất rắn hòa tan trong nước là một trong những chỉ tiêu đánh giá chất lượng của nước dùng trong thực phẩm. Theo tiêu chuẩn tổng chất rắn hòa tan trong nước dùng cho thực phẩm không quá 1000 mg/l.

2. Nguyên tắc xác định tổng chất rắn hòa tan trong nước

Sử dụng máy đo tổng chất rắn hòa tan TDS để xác định tổng chất rắn hòa tan trong mẫu nước phân tích. Giá trị kết quả được đưa ra dưới đơn vị ppm tương ứng mg/lít

3. Qui trình xác định tổng chất rắn hòa tan trong nước

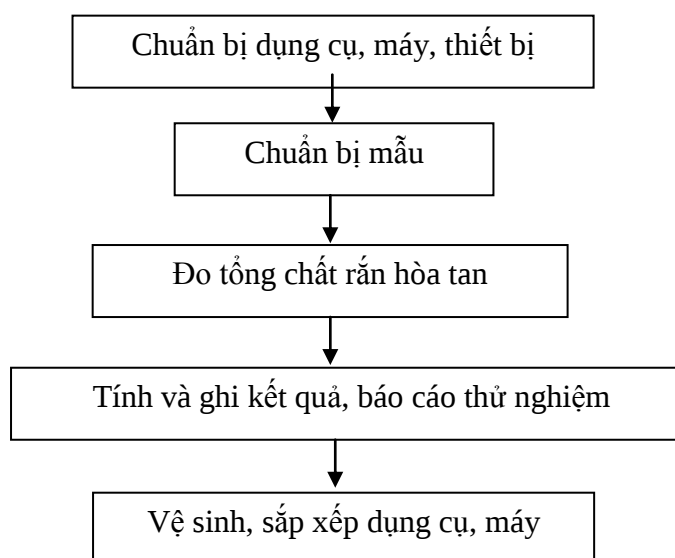
Quy trình xác định tổng chất rắn hòa tan thể hiện như hình 12.1.

3.1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị

3.1.1. Dụng cụ, thiết bị

Các dụng cụ cần chuẩn bị:

- Máy đo hàm lượng tổng chất rắn hòa tan (TDS),
- Cốc thủy tinh 500ml, nước cất.
- Khăn lau mềm, sạch.



Hình 12.1. Quy trình xác định tổng chất rắn hòa tan



Hình 12.2. Máy đo TDS cầm tay và bút đo TDS

**) Giới thiệu về máy đo TDS:*

Máy đo tổng chất rắn hòa tan TDS là một công cụ được thiết kế để kiểm tra môi trường nước - xác định tổng số chất hòa tan (tổng chất rắn hòa tan) trong nước (khoáng sản, muối, kim loại, cation, anion...). Giá trị kết quả được đưa ra dưới đơn vị ppm tương ứng mg/lít.

Thiết bị đo tổng chất rắn hòa tan TDS này được trang bị chế độ bù nhiệt độ tự động, vì thế kết quả không bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ nước.

Máy đo chất rắn hòa tan TDS thường được sử dụng để đo tổng số chất rắn hòa tan ở các nước trong hồ, ao, hồ bơi, nơi sản xuất nước uống sạch (nước uống đóng chai, nước tinh khiết, nước khoáng), thực phẩm, y tế...

Chú ý: Các máy đo tổng chất rắn hòa tan này không xác định những hạt đó là loại gì và cũng không thể được sử dụng để kiểm tra sự hiện diện của hóa chất, chất gây ô nhiễm được phẩm và dấu vết của thuốc trừ sâu, thuốc diệt cỏ hay kích thích tố...

3.1.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Chuẩn bị và kiểm tra các dụng cụ	Cốc thủy tinh 500ml, nước cất Khăn lau mềm	Sạch sẽ, không có vết nứt, sử dụng tốt
2	Chuẩn bị và kiểm tra sơ bộ các thiết bị	Máy đo hàm lượng tổng chất rắn hòa tan (TDS)	Sạch sẽ, hoạt động tốt

3.1.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Thao tác kiểm tra dụng cụ và thiết bị phải đúng theo hướng dẫn
- Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác.

3.2. Chuẩn bị mẫu

3.2.1. Phương pháp chuẩn bị mẫu

Lấy mẫu nước theo quy định hiện hành. Chuẩn bị mẫu từ mẫu được bảo quản để xác định tổng chất rắn hòa tan của nước.

Hút 100ml mẫu nước phân tích cho vào cốc để chuẩn bị tiến hành đo.

Đối với mẫu có những cặn lơ lửng, cần phải lọc loại bỏ trước khi hút mẫu.

3.2.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Lọc cặn lơ lửng	- Phễu thủy tinh - Giấy lọc	Lọc loại bỏ phần cặn lơ lửng
2	Hút mẫu nước	- Pipet - Quả bóp cao su - Bình tam giác 250ml	Hút chính xác thể tích 100ml mẫu nước cần phân tích Không để cho mẫu phân tích rơi vãi ra ngoài.

3.2.3. Các chú ý về an toàn lao động

Thao tác sử dụng dụng cụ thủy tinh phải thành thạo, tránh rơi, đổ, vỡ.

3.2.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Thể tích mẫu nước cần hút không chính xác.	- Thao tác hút bằng pipet chưa chính xác - Dùng ống đong để đong 100ml	- Không dùng ống đong để lấy mẫu nước vì ống đong có độ chính xác không cao. - Có thể sử dụng bình định mức 100ml để lấy mẫu nước thay vì dùng pipet để hút nhiều lần.

3.3. Đo tổng chất rắn hòa tan

3.3.1. Nguyên lý của máy đo TDS

Nguyên lý hoạt động của máy đo TDS thực chất là cách đo tính dẫn điện của nước để phản ánh giá trị TDS của nước.

Độ dẫn điện của nước là có liên quan trực tiếp đến nồng độ ion hóa của các chất rắn hòa tan trong nước. Ion từ các chất rắn hòa tan trong nước tạo ra khả năng dẫn điện của nước, yếu tố mà có thể được đo bằng máy đo TDS.

Chỉ số TDS của nước là tổng chất rắn hòa tan trong nước hay là tổng số các ion mang điện tích bao gồm khoáng chất, muối hoặc kim loại tồn tại trong một khối nước nhất định.

3.3.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Cho mẫu vào cốc thủy tinh	Cốc thủy tinh 500ml Mẫu nước phân tích	Mẫu trong cốc phải ngập qua lỗ tròn trên thân điện cực
2	Khởi động máy	Máy đo TDS	Bật nút khởi động
3	Đo mẫu lần 1	Máy đo TDS Cốc thủy tinh 500ml chứa mẫu nước phân tích	Nhúng đầu điện cực vào dung dịch mẫu, khuấy nhẹ và chờ kết quả ổn định, đọc và ghi kết quả.
4	Làm sạch điện cực	Nước cất, khăn lau mềm	Rửa điện cực bằng nước cất rồi lau khô bằng khăn mềm sạch.
5	Đo mẫu lần 2 và 3	Máy đo TDS Cốc thủy tinh 500ml chứa mẫu nước phân tích	Lặp lại các bước 1, 2, 3. Đọc kết quả tổng chất rắn hòa tan lần 2 và 3.

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
6	Vệ sinh điện cực	Máy đo TDS, nước cất, khăn lau mềm	Rửa điện cực bằng nước cất rồi lau khô bằng khăn mềm sạch. Đậy nắp điện cực

3.3.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Sau khi sử dụng máy đo TDS, rửa điện cực bằng nước sạch, nhưng không được cọ sát điện cực với cọ, chổi hay vật cứng.

- Trường hợp không sử dụng máy đo TDS trong thời gian dài, nên tháo pin ra khỏi máy. Vì hóa chất trong pin cũ có thể làm hỏng mạch in của máy đo.

3.3.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Kết quả đo không đáng tin cậy	Máy đo chưa được chuẩn.	Chuẩn máy với các dung dịch chuẩn phù hợp với từng loại máy
2	Màn hình xuất hiện giá trị E7	Điện cực bị hỏng	Thay điện cực mới.
3	Ký hiệu pin yếu hiển thị	Máy gần hết pin	Thay pin mới

3.4. Tính toán và biểu diễn kết quả

3.4.1. Kết quả

Tổng chất rắn hòa tan trong mẫu nước được hiển thị trên màn hình của máy đo TDS với đơn vị hiển thị là ppm (mg/l).

3.4.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Tính kết quả	Sổ ghi chép	Kết quả cuối cùng được tính từ trung bình cộng giá trị tổng chất rắn hòa tan của 3 lần đo
2	Ghi kết quả vào phiếu và sổ lưu	- Phiếu kết quả - Sổ lưu	Ghi chính xác kết quả
3	Báo cáo thử nghiệm	- Mẫu Báo cáo	Báo cáo phải được ghi đầy đủ về:

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			- Phương pháp thử nghiệm - Dụng cụ, thiết bị, hóa chất thử nghiệm - Phương pháp chuẩn bị mẫu - Cách tiến hành - Kết quả tổng chất rắn hòa tan trong mẫu nước phân tích - Phân tích các nguyên nhân gây sai số trong quá trình xác định và cách khắc phục.

3.4.3. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Kết quả tổng chất rắn hòa tan các lần đo chênh lệch nhau quá lớn	Mẫu chưa đồng nhất	Đồng nhất lại mẫu

3.5. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị

3.5.1. Nguyên tắc thực hiện

a. Phương pháp vệ sinh dụng cụ:

Dụng cụ chủ yếu là thủy tinh, được rửa bằng xà phòng và dùng chổi để lấy chất bẩn trong dụng cụ, sau đó rửa sạch bằng nước máy, cuối cùng tráng qua nước cất. Sau đó, được sấy khô ở nhiệt độ 105⁰C, 1 giờ.

b. Phương pháp vệ sinh các thiết bị:

Máy đo TDS: Dùng giấy mềm thấm lau sạch bề mặt và xung quanh máy (theo tài liệu kỹ thuật). Vệ sinh điện cực và dụng cụ chứa mẫu sạch sẽ.

3.5.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Vệ sinh dụng cụ thủy tinh	Cốc thủy tinh 500ml	Phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích. Dụng cụ thủy tinh phải được sấy khô (105⁰C, 1 giờ) Sắp xếp theo quy định
3	Vệ sinh, sắp xếp máy, thiết bị	Máy đo TDS	Các bộ phận của thiết bị: dụng cụ chứa mẫu, điện cực phải sạch, không được bám mẫu phân tích.

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			Máy đo được đặt đúng nơi quy định.

3.5.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Cần thận tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh.
- Tránh làm vỡ điện cực khi vệ sinh máy.

3.5.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Bể vỡ dụng cụ	Để lẫn lộn dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ sành sứ kim loại khác	Sắp xếp dụng cụ thủy tinh đúng nơi quy định

4. Thực hành xác định tổng chất rắn hòa tan trong nước

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
1	Chuẩn bị và kiểm tra các dụng cụ	Cốc thủy tinh 500ml, nước cất Khăn lau mềm	Sạch sẽ, không có vết nứt, sử dụng tốt	Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác
2	Chuẩn bị và kiểm tra sơ bộ các thiết bị	Máy đo hàm lượng tổng chất rắn hòa tan (TDS)	Sạch sẽ, hoạt động tốt	Thao tác kiểm tra dụng cụ và thiết bị phải đúng theo hướng dẫn
3	Chuẩn bị mẫu	Cốc thủy tinh 500ml Mẫu nước phân tích	Mẫu trong cốc phải ngập qua lỗ tròn trên thân điện cực	
4	Khởi động máy	Máy đo TDS	Bật nút khởi động	
5	Đo mẫu lần 1	Máy đo TDS Cốc thủy tinh 500ml chứa mẫu nước phân tích	Nhúng đầu điện cực vào dung dịch mẫu, khuấy nhẹ và chờ kết quả ổn định, đọc và	

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
			ghi kết quả.	
6	Làm sạch điện cực	Nước cất, khăn lau mềm	Rửa điện cực bằng nước cất rồi lau khô bằng khăn mềm sạch.	Rửa điện cực bằng nước sạch, nhưng không được cọ sát điện cực với cọ, chổi hay vật cứng
7	Đo mẫu lần 2 và 3	Máy đo TDS Cốc thủy tinh 500ml chứa mẫu nước phân tích	Lặp lại các bước 1, 2, 3. Đọc kết quả tổng chất rắn hòa tan lần 2 và 3.	
8	Vệ sinh điện cực	Máy đo TDS, nước cất, khăn lau mềm	Rửa điện cực bằng nước cất rồi lau khô bằng khăn mềm sạch. Đậy nắp điện cực	Trường hợp không sử dụng máy đo TDS trong thời gian dài, nên tháo pin ra khỏi máy.
9	Tính kết quả	Sổ ghi chép	Kết quả cuối cùng được tính từ trung bình cộng giá trị tổng chất rắn hòa tan của 3 lần đo	
10	Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị	Tất cả dụng cụ, thiết bị đã sử dụng	Các dụng cụ, thiết bị phải được vệ sinh phù hợp, sạch sẽ và sắp xếp ngăn nắp	Bề vỡ dụng cụ Lau chùi, sắp xếp dụng cụ thiết bị

Bài 13. XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG FLO

(Phương pháp so màu)

Mục tiêu:

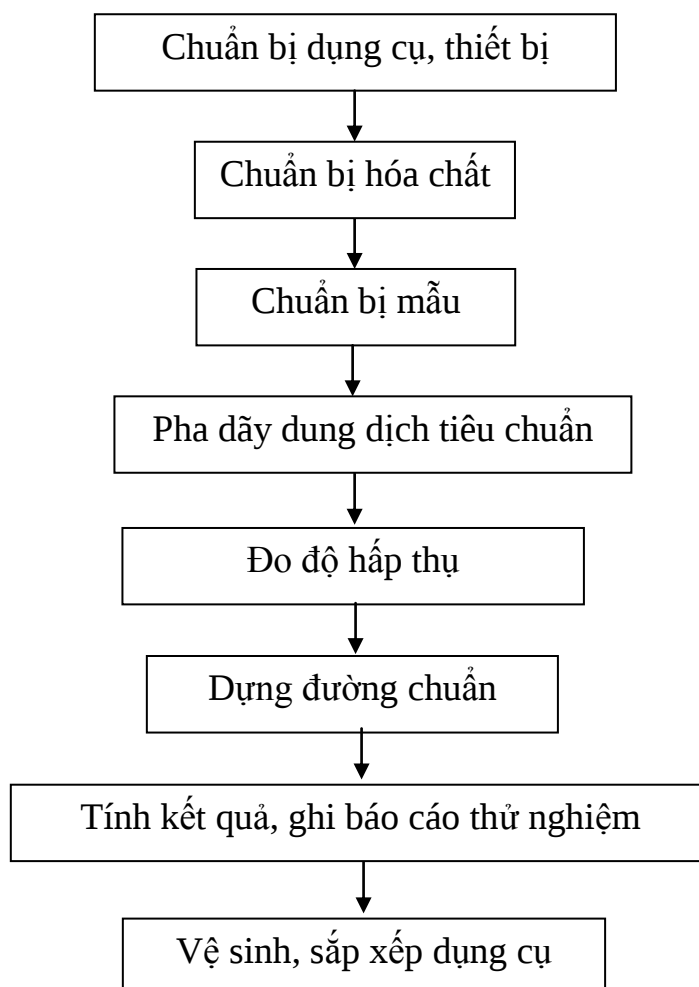
- Lựa chọn được các dụng cụ, thiết bị xác định hàm lượng Flo phù hợp;
- Sử dụng được máy so màu, cân phân tích thành thạo;
- Thực hiện xác định hàm lượng Flo theo đúng trình tự, chính xác và an toàn;
- Tính kết quả hàm lượng Flo chính xác;
- Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị theo quy định.

Ý nghĩa xác định hàm lượng Flo trong nước

Flo là một chất cực độc, ảnh hưởng trực tiếp đến sự phát triển của não bộ. Tuy nhiên hầu hết mọi người đều không biết đến tác hại của flo hoặc biết nhưng không thể kiểm soát được hàm lượng flo cho phép có trong nước.

Quy trình xác định hàm lượng Flo trong nước

Quy trình xác định hàm lượng Flo trong nước được trình bày ở hình 9.1.



Hình 13.1. Quy trình xác định hàm lượng flo bằng phương pháp so màu

Flo (Florua) là một hợp chất độc hại, ảnh hưởng trực tiếp đến sự phát triển của xương. Nếu như tiếp xúc và sử dụng nguồn nước nhiễm flo này trong một thời gian dài sẽ gây lên đau xương, gãy xương, sâu răng, răng yếu và tăng khả năng ung thư

Theo tiêu chuẩn nước uống quy định hàm lượng Flo trong khoảng 0,7-1,5 mg/l.

Nguyên tắc xác định hàm lượng Flo trong nước bằng phương pháp so màu

Nguyên tắc cơ bản của phương pháp này là: Natri alizarin sunfat trong môi trường axit tạo với thori hoặc zirconi một phức màu đỏ, phức này kết hợp với ion florua (F-) cho một phức màu vàng. Xác định hàm lượng florua theo cường độ màu.

1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị

1.1. Dụng cụ, thiết bị

Các dụng cụ và thiết bị cần chuẩn bị:

- Máy so màu đo được bước sóng 530nm, cuvet có bề dày 5-10cm
- Bộ chưng cất lồi cuộn hơi nước: ống sinh hàn, bình cầu, bình hứng
- Ống đong, ống nghiệm.
- Bình định mức 100ml; pipet 1m, 2ml, 10ml.
- Tủ sấy
- Bếp đun bình cầu
- Lò nung



Hình 13.2. Quang phổ kế tử ngoại



Hình 13.3. Cuvet thạch anh

1.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Chuẩn bị và kiểm tra các dụng cụ	- Bộ chưng cất lồi cuộn hơi nước: ống sinh hàn, bình cầu, bình hứng - Bình định mức 100ml; pipet 1m, 2ml, 10ml; ống đong,	- Sạch sẽ, không có vết nứt, sử dụng tốt

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
		ống nghiệm.	
2	Chuẩn bị và kiểm tra các thiết bị	- Máy so màu (kèm cuvet thạch anh) - Bếp đun bình cầu - Tủ sấy - Lò nung	Phải được kiểm tra và phải trong tình trạng hoạt động tốt Phù hợp với phép thử

1.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Thao tác kiểm tra dụng cụ và thiết bị phải đúng theo hướng dẫn.
- Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác.
- Phải chú ý về an toàn điện khi kiểm tra máy so màu, tủ sấy, bếp điện: không để dây điện ướt, tay ướt chạm vào ổ điện, phích cắm điện.

1.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Bể vỡ dụng cụ	Để chung dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ, kim loại	Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ bằng sứ và kim loại khác
2	Máy so màu, tủ sấy, bếp điện: không hoạt động khi khởi động	Do hở các mối điện	Kiểm tra dây điện, ổ cắm điện và thay dây điện nếu cần

2. Chuẩn bị hóa chất

2.1. Hóa chất

a. Hóa chất cần chuẩn bị:

- NaOH
- Bạc sunfat
- Acid nitric
- Acid sunfuric
- Alizarin sunfonat $\text{ZnOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$
- Natri florua
- Cát sạch

b. Cách pha các dung dịch:

**) Cách chuẩn bị thuốc thử ziriconializarin:*

- Cần chuẩn bị các hóa chất: dung dịch natri hidroxit 0,1 N, cát sạch nung ở 600°C, bạc sunfat tinh khiết, acid nitric 0,25 N, acid sunfuric 1 : 2, dung dịch alizarin sunfonat 90 mg/l.

- Dung dịch đệm gồm:

(1). Axit monocloraxetic 0,4 M chuẩn bị như sau:

Hòa tan 37,3 g axit monocloraxetic loại tinh khiết phân tích với nước cất đến đủ 1000 ml.

(2). Dung dịch natri hidroxit 0,2 N

Trộn hai dung dịch (1) và (2) theo tỉ lệ 1 : 1

Dung dịch zirconi clorua 0,001 M.

Hòa tan 0,3 g $\text{ZnOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ loại tinh khiết phân tích trong 50 ml nước cất. Thêm 33,3ml axit sunfuric đặc, tinh khiết. Lắc mạnh. Sau khi làm lạnh thêm nước cất đến đủ 1000 ml.

Bảo vệ dung dịch trong chai màu. Sau 1 giờ dung dịch có thể sử dụng được.

**) Cách pha dung dịch florua tiêu chuẩn:*

Hòa tan 0,221g natri florua đã sấy khô ở 105°C trong nước cất và thêm nước cất đến 1000 ml (1ml dung dịch này chứa 0,1 mg F⁻).

Pha loãng dung dịch 10 lần để có dung dịch, trong đó: 1ml dung dịch này chứa 0,01 mg F⁻.

c. Dụng cụ, thiết bị:

- Bình định mức 1000ml, 100ml

- Cốc thủy tinh

- Đũa thủy tinh

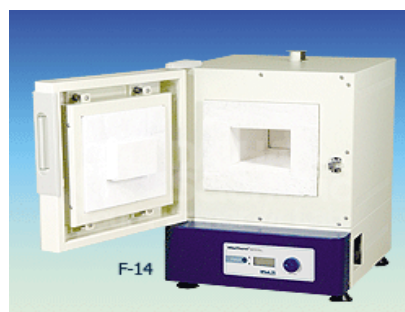
- Cân phân tích

- Tủ sấy

- Lò nung



Hình 13.4. Bình định mức



Hình 13.5. Lò nung



Hình 13.6. Đũa thủy tinh



Hình 13.7. Cân phân tích

2.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Kiểm tra hóa chất	NaOH, cát sạch, bạc sunfat, acid nitric, acid sunfuric, dung dịch alizarin sunfonat $\text{ZnOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, natri florua	Hóa chất tinh khiết, còn nhãn, đúng tên gọi Hóa chất còn hạn sử dụng
2	Chuẩn bị dung dịch NaOH 0,1N		
2.1	Cân hóa chất	- Hóa chất NaOH tinh khiết - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất NaOH được cân chính xác 0,4 g (độ chính xác 10^{-4}g) Hóa chất NaOH không được đổ ra ngoài khi cân.
2.2	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh	NaOH phải được hòa tan hoàn toàn trong nước cất
2.3	Định mức	- Bình định mức 100ml - Nước cất	- Định mức đúng vạch - Lắc đều
2.3	Cho dung dịch NaOH 0,1N vào lọ chứa	- NaOH 0,1N - Lọ chứa	Dung dịch NaOH 0,1N sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
3	Chuẩn bị dung dịch acid H_2SO_4 1:2		
3.1	Lấy hóa chất	- Hóa chất H_2SO_4 đậm đặc - Bình tam giác 250ml - Pipet	Hút chính xác 10ml H_2SO_4 đậm đặc cho vào bình tam giác có sẵn

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
		- Nước cất	20ml nước cất. Hóa chất H_2SO_4 không được đổ ra ngoài khi pha
3.2	Cho dung dịch H_2SO_4 1:2 vào lọ chứa	- Dung dịch H_2SO_4 1:2 - Lọ chứa	Dung dịch H_2SO_4 1:2 sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
4	Chuẩn bị dung dịch zirconi clorua 0,001 M		
4.1	Cân hóa chất	- Hóa chất $ZnOCl_2 \cdot 8H_2O$ tinh khiết - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất $ZnOCl_2 \cdot 8H_2O$ được cân chính xác 0,3 g (độ chính xác 10^{-4} g) Hóa chất $ZnOCl_2 \cdot 8H_2O$ không được đổ ra ngoài khi cân.
4.2	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh	$ZnOCl_2 \cdot 8H_2O$ phải được hòa tan hoàn toàn trong nước cất
4.3	Thêm hóa chất	- Acid sunfuric đậm đặc	Thêm 33,3ml acid sunfuric đậm đặc, lắc mạnh Làm lạnh
4.4	Định mức	- Bình định mức 1000ml - Nước cất	- Định mức đúng vạch - Lắc đều
4.5	Cho dung dịch zirconi clorua 0,001 M vào lọ chứa	- Zirconi clorua 0,001 M - Lọ chứa	Dung dịch zirconi clorua 0,001 M sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
5	Chuẩn bị dung dịch đệm		
5.1	Chuẩn bị acid monocloraxetic 0,4 M	- acid monocloraxetic - Nước cất - Bình định mức 1000ml	Hòa tan 37,3 g axit monocloraxetic với nước cất

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			- Định mức đến vạch - Lắc đều - Cho vào bình chứa, ghi nhãn (ngày pha, người pha, tên hóa chất)
5.2	Chuẩn bị NaOH 0,2N	- NaOH - Nước cất - Bình định mức 100ml	Hòa tan 0,8 g NaOH với nước cất - Định mức đến vạch - Lắc đều - Cho vào bình chứa, ghi nhãn (ngày pha, người pha, tên hóa chất)
5.3	Trộn hai dung dịch vừa pha	- Acid monocloraxetic 0,4 M - NaOH 0,2N - Pipet	Trộn hai theo tỉ lệ 1:1
5.4	Cho dung dịch đậm vào lọ chứa	- Dung dịch đậm - Lọ chứa	Dung dịch đậm sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có dán nhãn (tên hóa chất, ngày pha, người pha)
6	Chuẩn bị dung dịch florua tiêu chuẩn		
6.1	Sấy natri florua	- Natri fluorat tinh khiết - Tủ sấy	Sấy ở nhiệt độ 105°C Thời gian sấy: 1 giờ.
6.2	Cân hóa chất	- Hóa chất natri florua đã sấy - Cốc - Cân phân tích	Hóa chất natri florua đã sấy được cân chính xác 0,221g (độ chính xác 10^{-4} g) Hóa chất natri florua đã sấy không được đổ ra ngoài khi cân.
6.3	Hòa tan hóa chất	- Nước cất - Đũa thủy tinh	natri florua phải được hòa tan hoàn toàn trong nước cất

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
6.4	Định mức	- Bình định mức 1000ml - Nước cất	- Định mức đúng vạch - Lắc đều
6.5	Cho dung dịch Florua tiêu chuẩn vào lọ chứa	- Florua tiêu chuẩn - Lọ chứa	Dung dịch Florua tiêu chuẩn sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có dán nhãn (tên chất chuẩn, ngày pha, người pha)
7	Pha loãng Florua tiêu chuẩn		
7.1	Lấy hóa chất	- Hóa chất Florua tiêu chuẩn vừa pha - Bình tam giác 250ml - Pipet - Nước cất	Hút chính xác 10ml Florua tiêu chuẩn cho vào bình định mức 100ml. Hóa chất Florua tiêu chuẩn không được đổ ra ngoài khi pha
7.2	Định mức	- Bình định mức 100ml - Nước cất	- Định mức đến vạch - Lắc đều
7.3	Cho dung dịch Florua pha loãng vào lọ chứa	- Dung dịch Florua pha loãng - Lọ chứa	Dung dịch Florua pha loãng sau khi pha được cho vào lọ khô sạch có màu có dán nhãn (tên hóa chất, ngày pha, người pha)
8	Sấy cát	- Cát sạch - Lò nung	Nung ở 600 ⁰ C Thời gian nung 2 giờ.
9	Vệ sinh dụng cụ, cân	- Dụng cụ thủy tinh - Cân phân tích	Các dụng cụ thủy tinh phải rửa sạch và sấy khô ở 105 ⁰ C, 1 giờ Cân phải được vệ sinh theo tài liệu hướng dẫn

2.3. Các chú ý về an toàn lao động

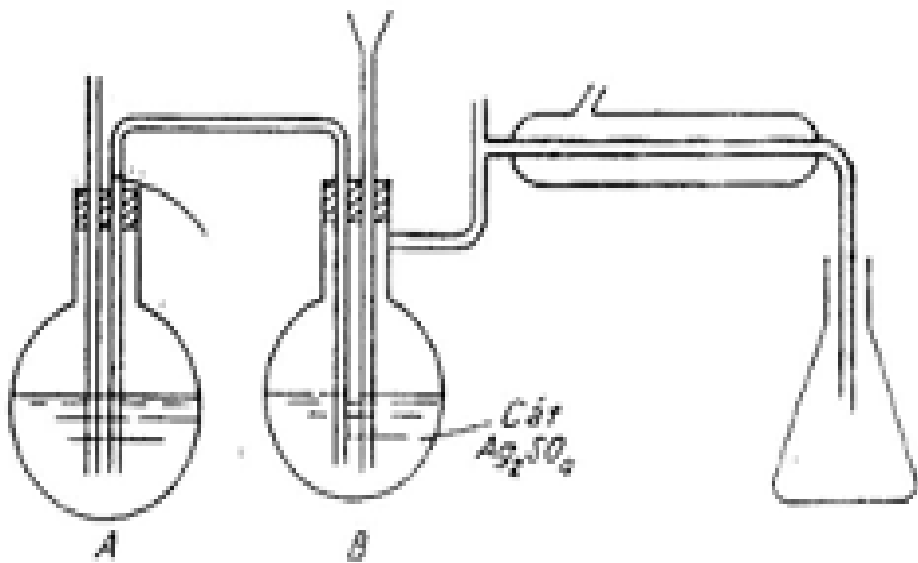
- Các dụng cụ thủy tinh nên cẩn thận tránh rớt, vỡ khi sử dụng.
- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất.

- ## 2.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Hóa chất bị hư hỏng	Dùng lọ thủy tinh trong suốt để đựng các hóa chất để bị phân hủy dưới tác dụng của ánh sáng như thuốc thử	Bảo quản thuốc thử trong lọ thủy tinh màu tối và để trong tối.

3.1. Phương pháp chuẩn bị mẫu

Nếu hàm lượng florua trong nước nhỏ hơn 0,4 mg/l cần phải sơ bộ làm giàu mẫu. Lấy 200 ml nước đã lọc cho vào bát sứ cho 2 giọt phenolphthalein thêm từng giọt NaOH 0,1N cho đến khi rõ phản ứng kiềm. Cho thêm vài giọt nữa. Đun nhẹ cho hỗn hợp bay hơi đến khi còn 50 ml rồi chuyển vào bình cất (B) như hình vẽ.



Hình 13.4. Sơ đồ hệ thống chưng cất Flo bằng lôi cuốn hơi nước

Nếu hàm lượng florua lớn hơn 0,4 mg/l ta lấy một lượng mẫu nước sao cho trong đó chứa từ 0,04 - 0,4 mg/l nhưng không quá 100 ml. Cho vào đó vài viên đá bọt và 0,1 đến 0,2 g cát.

Thêm 0,2 – 0,5g bạc sunfat nếu nước chứa clorua. Cho vào bình từ từ 25 ml acid sunfuric 1:2.

Trong bình A đổ nước cất đến $\frac{2}{3}$ bình, cho vào đó vài viên đá bọt, đun sôi bình A.

Khi bình A sôi, hơi nước bốc sang bình B, đun bình B và bắt đầu cất florua theo phương pháp cất kéo (hay phương pháp lôi cuốn hơn nước).

Trong quá trình cất phải theo dõi nhiệt độ nghiêm ngặt. Dung dịch cất phải đúng ở nhiệt độ 138 - 140°C. Tốc độ cất phải đạt 70 giọt/phút. Khi nào cất đủ 100 ml thì ngừng cất. Nước cất có chứa florua đem xác định bằng phương pháp so màu.

3.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Kiểm hóa mẫu	Nước phân tích, NaOH, phenolphthalein	Thử tích mẫu nước phân tích: tùy vào hàm lượng florua có trong mẫu (nhưng không quá 100ml) Dung dịch có màu hồng đậm
2	Lắp hệ thống chưng cất như hình 8.1	Bình cầu 500ml, ống sinh hàn, bình tam giác, các ống nối bằng thủy tinh	Lắp đúng sơ đồ, đảm bảo hệ thống kín giữa các khớp nối
3	Thêm hóa chất vào bình cất B	Bạc sunfat, acid sunfuric 1:2, cát	Khối lượng các hóa chất: Bạc sunfat: 0,2 – 0,5g, acid sunfuric 1 : 2: 25ml, cát: 0,2g.
5	Thêm nước cất và đá bọt vào bình A	Nước cất, đá bọt	Thử tích nước cất trong bình A: 2/3 bình, đá bọt vài viên.
6	Chưng cất	Bếp đun bình cầu, hệ thống chưng cất lõi cuốn hơi nước	Nhiệt độ 138 - 140°C. Tốc độ cất phải đạt 70 giọt/phút. Thử tích nước đạt 100 ml thì ngừng cất.

3.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất.
- Khi lắp bộ chưng cất Flo cần thao tác nhẹ nhàng, bôi trơn các khớp nối.
- Cần làm sạch máy chưng cất mỗi khi máy ngừng làm việc trong ít ngày.
- Thêm đá bọt vào bình cất nếu dung dịch sôi quá mạnh.

3.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Mẫu bị biến đổi	Không phân tích mẫu trong vòng 24 h sau khi	Tiến hành phân tích ngay hoặc có biện pháp bảo quản

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
		lấy mẫu về	phù hợp

4. Pha dãy dung dịch tiêu chuẩn

4.1. Nguyên tắc thực hiện

- Phương pháp pha dung dịch tiêu chuẩn:

Cho dung dịch florua 0,01mg/ml với thể tích tăng dần vào các bình định mức 100ml và lần lượt cho thêm các thuốc thử như trình bày trong bảng dưới đây:

Bảng 9.1: Lượng các hóa chất cần dùng để xây dựng đường chuẩn Florua

Bình số Dung dịch	1	2	3	4	5	6	7	8
Dung dịch florua tiêu chuẩn 0,01mg/ml, ml	0	0,5	1	1,5	2	3	4	5
Nước cất, ml	89	88,5	88	87,5	87	86	85	84
Dung dịch đệm, ml	5	5	5	5	5	5	5	5
Dung dịch Alizarin sunfonat 90mg/l, ml	5	5	5	5	5	5	5	5
Ziriconi clorua 0,001M, ml	1	1	1	1	1	1	1	1
Florua tương ứng, mg/l	0	0,05	0,10	0,15	0,2	0,3	0,4	0,5

Lắc trộn cẩn thận. Để yên 20 phút.

4.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Chuẩn bị dãy dung dịch florua chuẩn trong 8 bình định mức	Bình định mức 100ml, dung dịch florua chuẩn làm việc 0,01mg/ml	- Đánh số thứ tự các bình định mức từ 1-8. - Cho lần lượt dung dịch florua theo thể tích tăng dần vào các bình định mức từ 1-8: 0 – 0,5 – 1 – 1,5 – 2 – 3 – 4 – 5 (ml)
2	Lần lượt cho các hóa chất theo thứ tự vào	Bình định mức, pipet, ống đong; nước cất, dung	Thể tích các hóa chất cho

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
	trong các bình định mức	dịch đệm, dung dịch Alizarin sunfonat 90mg/l, dung dịch Ziriconi clorua 0,001M	vào các bình định mức: - Nước cất: thêm vào các bình định mức cho đủ 89 ml - Dung dịch đệm: 5ml - Dung dịch Alizarin sunfonat 90mg/l: 5ml - Dung dịch Ziriconi clorua 0,001M: 1ml
3	Lắc trộn cẩn thận, để yên	Dãy dung dịch florua chuẩn từ 1-8	Thời gian để yên 20 phút

4.3. Các chú ý về an toàn lao động

Tuân thủ các quy định về an toàn lao động khi sử dụng hóa chất.

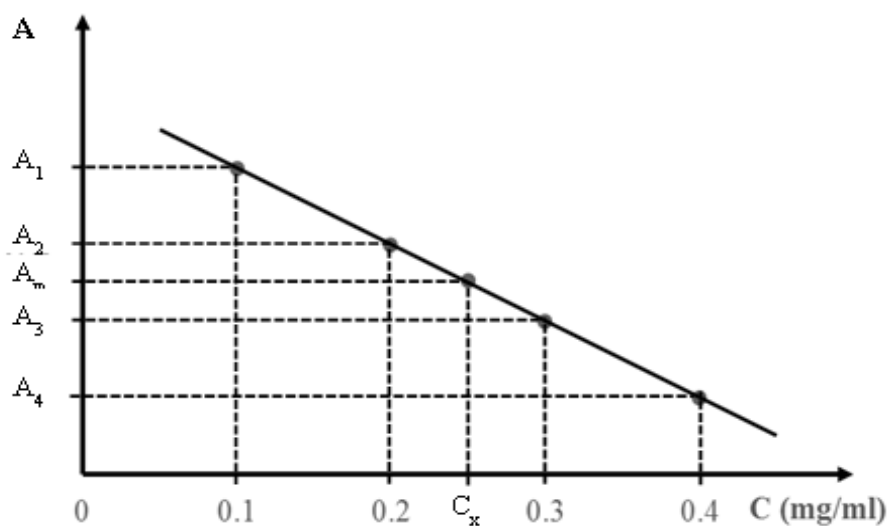
4.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Các dung dịch trong bình định mức không đạt đến vạch sau khi cho tất cả các hóa chất vào	Quá trình hút hóa chất thiếu chính xác	Đảm bảo thao tác hút các hóa chất chuẩn xác.

5. Xây dựng đường chuẩn

5.1. Nguyên tắc thực hiện

Sau 20 phút tiến hành đo độ hấp thụ ánh sáng của 8 dung dịch trên máy so màu ở bước sóng 530nm với cuvet 5cm. Dựa vào kết quả đo được, dựng đồ thị đường chuẩn với một trục biểu thị hàm lượng florua (mg/l), còn trục kia là mật độ quang tương ứng.



Hình 13.5. Đường chuẩn biểu thị sự phụ thuộc hàm lượng florua vào mật độ quang (hình minh họa)

5.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Khởi động máy so màu	Máy so màu	Cuvet không được có trong máy so màu trước khi khởi động. Kết nối máy so màu đúng nguồn điện Bật máy, phải chờ máy ổn định 15 phút
2	Chọn bước sóng, chế độ đo	Máy so màu	Chọn bước sóng 530nm Chế độ đo là độ hấp thụ (A)
3	Kiểm tra máy so màu với nước cất	- Máy so màu - Cuvet thạch anh - Nước cất	Cho cuvet vào khoang đúng khoang chứa cuvet của máy Kiểm tra độ hấp thụ (A) của nước cất, chỉnh máy để A=0.000
4	Đo mật độ quang của dãy dung dịch florua tiêu chuẩn	Dãy dung dịch huyền phù chuẩn từ 1-8, Máy so màu, cuvet 5cm, nước cất, khăn	- Cài đặt bước sóng 530nm - Cho dung dịch cần đo

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
		lau mềm sạch	vào khoảng 2/3 cuvet - Đọc giá trị mật độ quang khi đã ổn định - Đo lặp lại 3 lần để lấy kết quả trung bình
	Lập đường chuẩn	Máy vi tính, sổ ghi chép	Đường chuẩn phải tuyến tính

5.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Tuân thủ các quy định về an toàn lao động khi sử dụng hóa chất.
- Khi sử dụng máy so màu phải theo đúng hướng dẫn như:
- + Kiểm tra thiết bị trước khi sử dụng.
- + Cài đặt các thông số kỹ thuật đúng theo yêu cầu.
- + Thao tác phải nhẹ nhàng, chính xác.

5.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Giá trị mật độ quang không ổn định	Máy chưa ổn định	Máy so màu phải được khởi động ổn định 15 phút trước khi tiến hành đo mật độ quang
2	Giá trị mật độ quang bị sai số, dẫn đến đường chuẩn không tuyến tính	- Pha dung dịch chuẩn chưa chính xác - Thao tác hút các dung dịch không chuẩn xác - Không tráng lại cuvet bằng dung dịch cần đo sau khi tráng cuvet với nước cất - Huyền phù bị lắng dẫn đến mẫu không đồng nhất	- Pha lại dung dịch chuẩn cho chính xác về nồng độ - Đảm bảo thao tác hút các hóa chất chuẩn xác - Tráng lại cuvet bằng dung dịch cần đo trước khi đo mật độ quang - Lắc kỹ dung dịch huyền phù tiêu chuẩn trước khi đo màu và thao tác phải nhanh.

6. Đo mật độ quang của mẫu

6.1. Phương pháp thực hiện

Hút một lượng mẫu sao cho lượng florua nằm trong khoảng $0,005 \div 0,05\text{mg}$. Thêm nước cất đến $70 \div 80\text{ml}$, lần lượt thêm 5ml dung dịch đệm, 5ml dung dịch Alizarin sunfonat và 1ml Ziriconi clorua. Định mức đến vạch, lắc kỹ. Sau 20 phút đo mật độ quang của dung dịch ở bước sóng 530nm, cuvet 5cm.

Làm song song một mẫu trắng trong điều kiện của mẫu thử, thay mẫu nước phân tích

bằng nước cất.

6.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Chuẩn bị mẫu trong bình định mức	Bình định mức 100ml, pipet	Chuẩn bị một thể tích mẫu sao cho lượng florua nằm trong khoảng $0,005 \div 0,05\text{mg}$.
2	Lần lượt cho các hóa chất theo thứ tự vào trong bình định mức	Bình định mức, pipet, ống đong; nước cất, dung dịch đệm, dung dịch Alizarin sunfonat 90mg/l, dung dịch Ziriconi clorua 0,001M	Thể tích các hóa chất cho vào bình định mức chứa mẫu: - Nước cất: thêm vào cho đủ 89 ml - Dung dịch đệm: 5ml - Dung dịch Alizarin sunfonat 90mg/l: 5ml - Dung dịch Ziriconi clorua 0,001M: 1ml → Thể tích dung dịch tổng cộng: 100ml
3	Lắc trộn cẩn thận, để yên	Mẫu phân tích	Thời gian để yên 20 phút
4	Đo mật độ quang của dung dịch mẫu	Mẫu phân tích, Máy so màu, cuvet 5cm, nước cất, khăn lau mềm sạch	- Cài đặt bước sóng 530nm - Cho dung dịch mẫu vào khoảng 2/3 cuvet - Đọc giá trị mật độ quang khi đã ổn định - Đo lặp lại 3 lần để lấy kết quả trung bình
5	Làm song song một mẫu trắng Lặp lại các thao tác trên nhưng thay mẫu nước phân tích bằng nước cất	Bình định mức, pipet, ống đong; nước cất, dung dịch đệm, dung dịch Alizarin sunfonat 90mg/l, dung dịch Ziriconi clorua 0,001M; Mẫu phân tích, Máy so màu, cuvet 5cm, nước cất, khăn lau mềm sạch	Đo lặp lại 3 lần để lấy kết quả mật độ quang trung bình của mẫu trắng

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
6	Ghi kết quả đo độ hấp thụ	- Máy so màu - Sổ ghi chép	Kết quả đo độ hấp thụ được tính trung bình và phải được ghi chính xác

6.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Khi sử dụng máy so màu phải theo đúng hướng dẫn như:
- + Kiểm tra thiết bị trước khi sử dụng.
- + Cài đặt các thông số kỹ thuật đúng theo yêu cầu.
- + Thao tác phải nhẹ nhàng, chính xác.
- Tuân thủ các quy định về an toàn lao động khi sử dụng hóa chất.

6.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Giá trị mật độ quang không ổn định	Máy chưa ổn định	Máy so màu phải được khởi động ổn định 15 phút trước khi tiến hành đo mật độ quang
2	Độ hấp thụ thay đổi đáng kể giữa các lần đo	Dùng các cuvet khác nhau	Dùng một cuvet
3	Độ hấp thụ giảm dần	Cuvet có bọt khí	Dùng pipet cho mẫu vào cuvet

7. Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm

7.1. Công thức tính kết quả

Phương pháp tính:

Từ đường chuẩn đã lập, sử dụng phương pháp bình phương cực tiểu để lập phương trình đường chuẩn $y=ax+b$. (Hoặc có thể sử dụng phần mềm excel trong máy vi tính để lập phương trình đường chuẩn)

Hàm lượng florua (X) biểu diễn bằng mg/l tính theo công thức:

$$X = \frac{C.1000}{V}$$

Trong đó:

C : hàm lượng florua tìm được theo đường chuẩn, tính bằng mg.

V : thể tích mẫu nước lấy để phân tích, tính bằng ml.

7.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Dựa vào phương trình đường chuẩn và kết quả đo mật độ quang của mẫu thử	Máy vi tính, sổ ghi chép	Tính đúng hàm lượng flo tìm được theo đường chuẩn
2	Ghi kết quả vào phiếu và sổ lưu	- Phiếu kết quả - Sổ lưu	Ghi chính xác kết quả
3	Báo cáo thử nghiệm	- Mẫu Báo cáo	Báo cáo phải được ghi đầy đủ về: - Phương pháp thử nghiệm - Dụng cụ, thiết bị, hóa chất thử nghiệm - Phương pháp chuẩn bị mẫu - Cách tiến hành - Kết quả mật độ quang của mẫu thử và các mẫu chuẩn - Đồ thị đường chuẩn - Kết quả hàm lượng flo - Phân tích các nguyên nhân gây sai số trong quá trình xác định và cách khắc phục.

7.3. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Kết quả xác định độ đục không chính xác	Phương trình đường chuẩn chưa chính xác	Kiểm tra lại cách lập phương trình đường chuẩn

8. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, máy, thiết bị

8.1. Nguyên tắc thực hiện

a. Phương pháp vệ sinh dụng cụ:

Dụng cụ thủy tinh được rửa bằng xà phòng và dùng chổi để lấy chất bẩn trong dụng cụ, sau đó rửa sạch bằng nước máy, cuối cùng tráng qua nước cất. Sau đó, được sấy khô ở nhiệt

độ 105⁰C, 1 giờ.

b. Phương pháp vệ sinh các máy, thiết bị:

- Cân phân tích: Dùng giấy mềm thấm lau sạch bề mặt cân và xung quang khu vực cân (theo tài liệu kỹ thuật)
- Máy so màu: Dùng khăn mềm lau bên trong và bên ngoài máy sau khi ngừng máy (theo tài liệu kỹ thuật). Cuvet được rửa sạch để ráo, cho vào hộp
- Lò nung, tủ sấy: Vệ sinh sạch bên trong và ngoài máy sau khi tắt máy làm nguội.

8.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Vệ sinh dụng cụ thủy tinh	Bình định mức 100ml; pipet 1m, 2ml, 10ml; ống đong, ống nghiệm Bộ chưng cất	Phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích. Dụng cụ thủy tinh phải được sấy khô (105 ⁰ C, 1 giờ) Sắp xếp theo quy định
2	Vệ sinh, sắp xếp máy, thiết bị	- Máy so màu - Lò nung - Tủ sấy - Cân phân tích	Các bộ phận của thiết bị phải sạch, không được sót lại mẫu vật. Các máy, thiết bị được đặt đúng nơi quy định.

8.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Cần thận tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh.
- Bếp điện, quang phổ kế phải được ngừng máy, rút dây nguồn, rồi mới được vệ sinh.
- Chú ý an toàn điện khi vệ sinh bếp điện, máy so màu không để dây điện ướt, tay ướt chạm vào ổ điện, phích điện.

8.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Cân bị lỗi	Tắt máy không đúng theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Vệ sinh khi chưa tắt cân	Tắt cân theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật Phải tắt cân rồi mới được vệ sinh
2	Máy so màu, lò nung, tủ	Vệ sinh không đúng	Vệ sinh máy so màu, lò

	sấy, cân phân tích không được vệ sinh sạch sẽ	theo hướng dẫn của tài liệu kỹ thuật	nung, tủ sấy, cân phân tích theo hướng dẫn tài liệu kỹ thuật
--	---	--------------------------------------	--

9. Thực hành xác định hàm lượng Flo

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
1	Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị	- Bộ chưng cất lôi cuốn hơi nước: ống sinh hàn, bình cầu, bình hứng - Bình định mức 100ml; pipet 1m, 2ml, 10ml; ống đong, ống nghiệm. - Máy so màu, cuvet - Lò nung - Tủ sấy	- Dụng cụ sạch, khô và không có vết nứt. - Thiết bị phải được kiểm tra và trong tình trạng hoạt động tốt	- Không để lẫn lộn các dụng cụ thủy tinh với các dụng cụ, thiết bị bằng sứ và kim loại khác. - Chú ý về an toàn điện khi kiểm tra các thiết bị
2	Chuẩn bị hóa chất Pha hóa chất	NaOH, cát sạch, bạc sunfat, acid nitric, acid sunfuric, dung dịch alizarin sunfonat $\text{ZnOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, natri florua - Cốc - Cân phân tích - Nước cất - Đũa thủy tinh	- Hóa chất tinh khiết, còn nhãn, đúng tên gọi - Hóa chất còn hạn sử dụng - Các hóa chất pha đúng nồng độ quy định	- Tuân thủ các quy định an toàn, có bảo hộ lao động như găng tay và khẩu trang khi tiếp xúc với hóa chất - Cẩn thận khi tiếp xúc với acid H_2SO_4 đậm đặc và khi thao tác pha loãng phải đúng quy trình
3	Chuẩn bị mẫu	Bình cầu 500ml, ống sinh hàn, bình tam giác, các ống nối bằng thủy tinh, Bếp đun bình cầu Bạc sunfat, acid sunfuric 1:2, cát	Thử tích mẫu nước phân tích: tùy vào hàm lượng florua có trong mẫu (nhưng không quá 100ml) Lắp đúng sơ đồ, đảm bảo hệ thống kín giữa các khớp nối	- Khi lắp bộ chưng cất Flo cần thao tác nhẹ nhàng, bôi trơn các khớp nối. - Cần làm sạch máy chưng cất mỗi khi máy

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
		Nước cất, đá bọt	Bạc sunfat: 0,2 – 0,5g, acid sunfuric 1 : 2: 25ml, cát: 0,2g. Nhiệt độ 138 - 140°C. Tốc độ cất phải đạt 70 giọt/phút. Thể tích nước đạt 100 ml thì ngừng cất.	ngừng làm việc trong ít ngày. - Thêm đá bọt vào bình cất nếu dung dịch sôi quá mạnh
4	Pha dãy dung dịch tiêu chuẩn	Bình định mức 100ml, dung dịch florua chuẩn làm việc 0,01mg/ml Bình định mức, pipet, ống đong; nước cất, dung dịch đậm, dung dịch Alizarin sunfonat 90mg/l, dung dịch Ziriconi clorua 0,001M	- Đánh số thứ tự các bình định mức từ 1-8. - Cho lần lượt dung dịch florua theo thể tích tăng dần vào các bình định mức từ 1-8: 0 – 0,5 – 1 – 1,5 – 2 – 3 – 4 – 5 (ml) - Nước cất: thêm vào các bình định mức cho đủ 89 ml - Dung dịch đậm: 5ml - Dung dịch Alizarin sunfonat 90mg/l: 5ml - Dung dịch Ziriconi clorua 0,001M: 1ml Thời gian để yên 20 phút	- Tuân thủ các quy định về an toàn lao động khi sử dụng hóa chất.
5	Xây dựng đường chuẩn	- Máy so màu - Cuvet thạch anh - Nước cất	- Bật máy so màu, phải chờ máy ổn định 15 phút - Chọn bước sóng 530nm Chế độ đo là độ hấp thụ (A) - Đo mật độ quang của dãy dung dịch florua tiêu chuẩn lặp lại 3 lần để lấy kết	- Sử dụng máy so màu phải theo đúng hướng dẫn

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
			quả trung bình	
6	Đo mật độ quang của mẫu	Ống mẫu, máy so màu, cuvet 5cm Bình định mức, pipet, ống đong; nước cất, dung dịch đậm, dung dịch Alizarin sunfonat 90mg/l, dung dịch Ziriconi clorua 0,001M; Mẫu phân tích, nước cất, khăn lau mềm sạch.	Chuẩn bị một thẻ tích mẫu sao cho lượng florua nằm trong khoảng $0,005 \div 0,05\text{mg}$. - Nước cất: thêm vào cho đủ 89 ml - Dung dịch đậm: 5ml - Dung dịch Alizarin sunfonat 90mg/l: 5ml - Dung dịch Ziriconi clorua 0,001M: 1ml → Thẻ tích dung dịch tổng cộng: 100ml - Đo mật độ quang của mẫu ở bước sóng 530nm, lặp lại 3 lần để lấy kết quả trung bình Làm song song mẫu trắng	- Cần thận tránh làm vỡ, trầy xước cuvet. - Khi sử dụng máy so màu phải theo đúng hướng dẫn
7	Tính kết quả, ghi kết quả và viết báo cáo thử nghiệm	- Máy vi tính, sổ ghi chép - Phiếu kết quả - Sổ lưu	Tính đúng độ đục tìm được theo đường chuẩn Ghi chính xác kết quả vào sổ lưu	
8	Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị	- Bình định mức 100ml; pipet 1ml, 2ml, 10ml; ống đong, ống nghiệm - Bộ chưng cất - Máy so màu - Lò nung	- Các dụng cụ thủy tinh phải được rửa sạch, không còn sót mẫu phân tích, phải được sấy khô (105°C, 1 giờ) - Các bộ phận của máy, thiết bị phải	- Tránh làm vỡ dụng cụ thủy tinh khi vệ sinh - Chú ý an toàn điện khi vệ sinh bếp điện, máy so màu không để dây điện ướt, tay

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
		- Tủ sấy - Cân phân tích	sạch, không được sót lại mẫu vật. Các máy, thiết bị được đặt đúng nơi quy định.	ướt chạm vào ổ điện, phích điện.

BÀI 14. XÁC ĐỊNH COLIFORMS

Mục tiêu

- Trình bày được phương pháp sử dụng trong phân tích chỉ tiêu *Coliforms*;
- Lựa chọn đúng thiết bị, dụng cụ, hóa chất, nguyên vật liệu cần dùng trong phân tích;
- Thực hiện đúng quy trình phân tích chỉ tiêu *Coliforms* trong nước;
- Nhận dạng đúng các đặc điểm của chỉ tiêu;
- Tính toán kết quả và đánh giá chất lượng chỉ tiêu *Coliforms* và *E.Coli* trong nước;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, có ý thức bảo vệ thiết bị trong phòng phân tích vi sinh.

Nguyên tắc xác định chỉ tiêu Coliforms

Nhóm *Coliforms* là những trực khuẩn gram âm, có hình que, không sinh bào tử, hiếu khí hoặc kỵ khí tùy nghi, có khả năng lên men lactose và sinh hơi từ nguồn carbon này trong vòng 24 - 48 giờ ở nhiệt độ 37°C. Trong thực tế phân tích, *Coliforms* còn được định nghĩa là các vi khuẩn có khả năng lên men, sinh hơi trong khoảng 48 giờ khi ủ ở nhiệt độ 37°C trong môi trường canh Lauryl Sulphate Broth (LSB) và môi trường canh Brilliant Green Bile Lactose Salt (BGBL).

Thực hiện pha loãng mẫu đã được đồng hóa ở nồng độ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} theo phương pháp MPN với 3 nồng độ và 3 ống lặp lại (hệ 3 x 3 hay 9 ống nghiệm) hoặc 3 nồng độ và 5 ống lặp lại (hệ 3 x 5 hay 15 ống nghiệm).

Cấy một lượng mẫu xác định trên môi trường chọn lọc LSB, nuôi ủ ở $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ trong 48 giờ. Theo dõi, quan sát, ghi nhận số ống có sinh hơi (ống Durham nổi), đổi màu môi trường để định tính sự hiện diện của vi khuẩn trong các ống thử nghiệm. Thực hiện phản ứng thử nghiệm khẳng định trên môi trường BGBL ở $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ trong 24 giờ. Nếu kết quả thu được là ống môi trường đục và hình thành khí thì khẳng định sự có mặt của *Coliforms*.

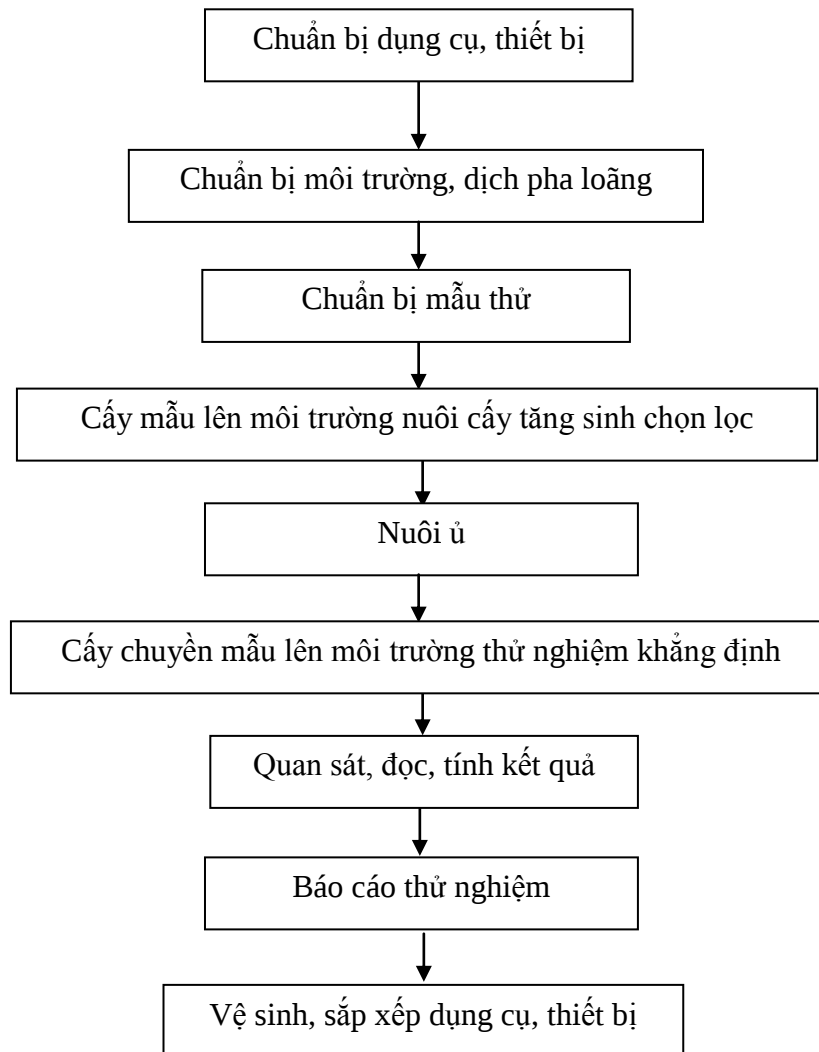
Quy trình xác định

Quy trình phân tích chỉ tiêu bao gồm các bước: chuẩn bị mẫu thử, cấy mẫu lên bề mặt môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc, nuôi ủ ở điều kiện nhiệt độ và thời gian quy định, cấy chuyển lên môi trường thử nghiệm khẳng định. (Hình 14.1).

1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị

1.1. Phương pháp chuẩn bị dụng cụ, thiết bị

- Cân phân tích
- Tủ sấy
- Nồi hấp áp lực
- Tủ ấm (có khả năng hoạt động ở $30 - 37 \pm 1^{\circ}\text{C}$)
- Tủ cấy có đèn khử trùng
- Pipet (có dung tích danh định 1ml được chia vạch 1ml, 10ml)



Hình 14.1. Quy trình xác định Coliforms

- Nồi đun cách thủy (có thể hoạt động ở nhiệt độ 44°C - 47°C)
- Máy đập mẫu (Stomacher)
- Máy trộn mẫu (Vortex mixer)
- Lò vi sóng
- Tủ lạnh
- Thiết bị lọc màng khử trùng dung dịch
- Máy đo pH (có độ chính xác $\pm 0,1$ đơn vị ở 25°C)
- Ống nghiệm (kích thước khoảng 16mm x 160mm)
- Ống Durham (có kích thước phù hợp với ống nghiệm)
- Bình tam giác có dung tích thích hợp và không lớn hơn 500ml
- Kẹp inox, đèn cồn
- Máy nghiền mẫu đồng thể
- Que cấy vòng (bằng Pt hoặc Ni- Cr, đường kính khoảng 3mm, hoặc loại vòng dùng một lần).

Dụng cụ thí nghiệm và các vật liệu khác để sử dụng trong phân tích phải có thiết kế phù hợp, được sử dụng đúng mục đích và được chuẩn bị (bao gói, khử trùng) đảm bảo được độ sạch và vô trùng cho đến khi sử dụng.

1.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Làm sạch dụng cụ	Các dụng cụ thí nghiệm, dụng cụ vệ sinh Dung dịch vệ sinh tẩy rửa/khử trùng	Đảm bảo độ sạch về vật lý, hóa học và sinh học
2	Làm khô dụng cụ	Các dụng cụ thí nghiệm	Khô ráo hoàn toàn
3	Bao gói dụng cụ	Các dụng cụ thí nghiệm Vật liệu bao gói dụng cụ (giấy, giấy bạc, hộp kín)	Vật liệu bao gói phù hợp với dụng cụ, phương pháp khử trùng Dụng cụ được bao gói kín
4	Khử trùng dụng cụ	Các dụng cụ thí nghiệm Tủ sấy, nồi hấp áp lực Dung dịch khử trùng	Đúng yêu cầu nhiệt độ, thời gian theo chế độ khử trùng Dụng cụ sau khi sấy có giấy bao gói có màu hơi vàng
5	Sử dụng dụng cụ	Các dụng cụ thí nghiệm	Dụng cụ còn nguyên bao gói kín đến khi sử dụng Các dụng cụ được sử dụng phù hợp, đúng mục đích
6	Bảo quản dụng cụ	Các dụng cụ thí nghiệm	Được bảo quản trong các vật chứa sạch, trong điều kiện giữ được độ vô trùng, Ghi thời gian khử trùng trên mỗi bao bì của dụng cụ

1.3. Các chú ý về an toàn lao động

Khi sử dụng tủ sấy, nồi hấp áp lực, dung dịch khử trùng phải theo đúng hướng dẫn như:

- Kiểm tra tình trạng thiết bị trước khi sử dụng.
- Cài đặt các thông số kỹ thuật đúng theo yêu cầu.
- Thao tác vận hành thiết bị phải nhẹ nhàng, cẩn thận, tuân thủ theo đúng hướng dẫn.
- Phải có người theo dõi trong suốt quá trình thiết bị hoạt động.

1.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Dụng cụ bị nhiễm khuẩn do khử trùng	Chế độ khử trùng không đảm bảo theo yêu cầu kỹ thuật	Cài đặt đúng nhiệt độ, thời gian quy định Tính đủ thời gian khử trùng dụng cụ từ khi đạt nhiệt độ yêu cầu
2	Dụng cụ bị nứt, vỡ sau khi sấy	Bị sốc nhiệt giữa bên trong và bên ngoài tủ sấy	Mở tủ cho nhiệt độ hạ xuống đến 60 ⁰ C, cân bằng với nhiệt độ môi trường mới lấy dụng cụ ra
3	Dụng cụ bị ướt, bị rách bao bì sau khử trùng	Bao bì bao gói không phù hợp Bao gói không đúng kỹ thuật	Chọn vật liệu bao gói bao bì phù hợp theo phương pháp khử trùng Bao gói đúng theo yêu cầu kỹ thuật
4	Dụng cụ bị nhiễm khuẩn do bảo quản	Dụng cụ bị hở/rách bao bì khi bảo quản	Dụng cụ được bảo quản trong các điều kiện vô trùng, giữ nguyên bao bì, được bảo quản trong các vật chứa sạch.
5	Dụng cụ đã khử trùng bị lẫn loại với dụng cụ chưa khử trùng	Dụng cụ đã khử trùng để chung với dụng cụ chưa khử trùng	Ghi thời gian khử trùng ngay trên mỗi bao bì dụng cụ Đề riêng biệt và ghi ký hiệu phân biệt giữa dụng cụ đã khử trùng và chưa khử trùng.

2. Chuẩn bị môi trường, dịch pha loãng

2.1. Phương pháp chuẩn bị môi trường, dịch pha loãng

Môi trường chọn lọc thử nghiệm cho *Coliforms* là môi trường chứa lactose như môi trường canh chọn lọc Brilliant Green Bile Lactose.

- Môi trường Lauryl Sulphate Broth (LSB) được phân phối vào trong các ống nghiệm, mỗi ống 10ml và có ống Durham đặt ngược bên trong. Khử trùng ở 121⁰C trong 15 phút. Sau khi khử trùng phải đảm bảo không có bọt khí trong các ống Durham ngược.

- Môi trường Brilliant Green Bile Lactose Broth (BGBL) được phân phối vào trong các ống nghiệm, mỗi ống 10ml và có ống Durham đặt ngược bên trong. Khử trùng ở 121⁰C trong 15 phút. Sau khi khử trùng phải đảm bảo không có bọt khí trong các ống Durham ngược.

Các môi trường có thể tự pha chế từ các thành phần hóa chất và nguyên vật liệu yêu cầu hoặc có thể sử dụng môi trường hoàn chỉnh đã pha chế sẵn.

- Dịch pha loãng SPW (Salt Pepton Water) hoặc các dịch khác nhưng phải tuân theo tiêu chuẩn cụ thể, liên quan đến sản phẩm lương thực thực phẩm cần kiểm tra.

2.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Tính toán định lượng hóa chất, nguyên vật liệu pha môi trường, dịch pha loãng theo nhu cầu sử dụng	Bút, máy tính Bảng thành phần môi trường, dịch pha loãng	Tính toán định lượng hợp lý theo nhu cầu sử dụng Tính đúng, đầy đủ các loại hóa chất, nguyên vật liệu trong thành phần môi trường
2	Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất, nguyên vật liệu	Dụng cụ thí nghiệm, hóa chất, nguyên vật liệu	Đầy đủ, đúng chủng loại yêu cầu Các hóa chất phải đảm bảo về độ tinh khiết, còn trong thời hạn sử dụng
3	Cân (hút) hóa chất, nguyên vật liệu (môi trường hoàn chỉnh)	Các hóa chất, nguyên vật liệu pha chế môi trường, dịch pha loãng Cân phân tích Cốc thủy tinh, đĩa thủy tinh	Đầy đủ thành phần Đúng định lượng (thể tích, khối lượng) theo yêu cầu
4	Đun nóng môi trường LSB, BGBL	Các hóa chất, nguyên vật liệu pha chế môi trường, dịch pha loãng Nước cất Bếp điện, nồi đun, đĩa thủy tinh	Môi trường đun nóng nhẹ trên nồi đun cách thủy đúng trình tự theo hướng dẫn Đảm bảo không có sự tương tác giữa các thành phần (tạo phản ứng kết tủa)

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			với nhau) Theo nguyên tắc phối trộn thể tích tăng dần Các hóa chất, nguyên vật liệu/môi trường hoàn chỉnh hòa tan hoàn toàn Môi trường đồng nhất
5	Làm trong	Bông lọc, giấy lọc, vải thưa, phễu lọc nóng Lòng trắng trứng	Làm trong, để lắng rồi mới lọc Môi trường trong suốt
6	Chỉnh pH	Giấy đo pH (máy đo pH) Hóa chất điều chỉnh pH	Đúng pH theo yêu cầu của từng loại môi trường Môi trường LSB, BGBL chỉnh pH sau khi khử trùng
7	Phân phối vào dụng cụ chứa	Ống nghiệm, bình tam giác, đĩa petri, pipet, phễu thủy tinh Bông không thấm nước Môi trường LSB, BGBL	Đúng loại dụng cụ, thể tích yêu cầu theo mục đích sử dụng Lượng môi trường phân phối chính xác 10ml/ống nghiệm có chứa ống Durham Rót nhanh, gọn, không rơi vãi Môi trường không được dây dính lên nắp/thành ống nghiệm
8	Khử trùng môi trường	Nồi hấp áp lực Môi trường LSB Môi trường BGBL	Vị trí đặt để, sắp xếp gọn gàng, hợp lý Cài đặt đúng thông số kỹ thuật khử trùng theo yêu cầu (nhiệt độ, thời gian) Vận hành thiết bị đúng theo hướng dẫn Ống Durham trong môi trường LSB, BGBL không

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
			có bọt khí sau khử trùng (ống Durham chìm)
9	Sử dụng môi trường	Môi trường LSB, BGBL đã khử trùng	Kiểm tra lại độ vô trùng của môi trường tại thời điểm sử dụng Sử dụng những ống môi trường có ống Durham chìm, đảm bảo vô trùng
10	Lưu giữ môi trường	Các môi trường, dịch pha loãng đã khử trùng Tủ lạnh	Bảo quản theo đúng hướng dẫn, yêu cầu kỹ thuật (nhiệt độ, thời gian, độ vô trùng, độ ẩm) Viết nhãn, thông tin đầy đủ trên dụng cụ đựng môi trường

2.3. Các chú ý về an toàn lao động

Khi sử dụng nồi hấp áp lực phải theo đúng hướng dẫn:

- Kiểm tra tình trạng thiết bị trước khi sử dụng.
- Cài đặt các thông số kỹ thuật đúng theo yêu cầu.
- Thao tác vận hành thiết bị phải nhẹ nhàng, cẩn thận, theo đúng hướng dẫn.
- Phải có người theo dõi trong suốt quá trình thiết bị hoạt động.

2.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Môi trường, dịch pha loãng không đảm bảo yêu cầu kỹ thuật (thành phần, bị hư hỏng, bị đục, kết tủa, lắng cặn..)	Không đúng/thiếu/thừa thành phần, định lượng yêu cầu Trình tự pha chế không tuân theo hướng dẫn Hóa chất pha chế môi trường bị hư hỏng/hết hạn sử dụng	Pha đúng, đầy đủ thành phần định lượng theo hướng dẫn Tuân thủ đúng theo hướng dẫn Kiểm tra hóa chất, nguyên vật liệu trước khi sử dụng
2	pH không đúng theo yêu cầu	Dùng chất chỉnh pH không phù hợp Dùng quá lượng chất	Dùng chất chỉnh pH phù hợp Dùng từng lượng nhỏ

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
		chỉnh pH	Kiểm tra pH trước và sau khi hấp khử trùng
3	Môi trường bị bung nút bông, bị trào môi trường ra ngoài sau khi khử trùng	Do thao tác vận hành nồi hấp áp lực không đúng theo hướng dẫn Cài đặt thông số kỹ thuật nồi hấp áp lực không đúng theo hướng dẫn	Vận hành thiết bị đúng theo hướng dẫn Cài đặt thông số tuân thủ đúng theo hướng dẫn
4	Môi trường bị nhiễm khuẩn do bảo quản	Do quá trình thao tác không đảm bảo vô trùng	Tuân thủ theo đúng yêu cầu kỹ thuật Kiểm tra độ vô trùng của môi trường trước khi sử dụng

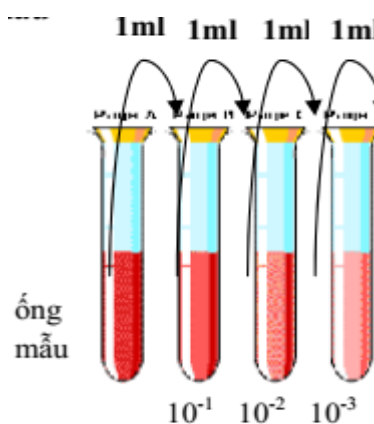
3. Chuẩn bị mẫu thử

3.1. Phương pháp chuẩn bị mẫu thử

Mẫu thử nghiệm yêu cầu đúng mẫu đại diện, không bị hư hỏng và biến đổi chất lượng trong suốt quá trình vận chuyển và bảo quản. Mẫu phân tích đại diện lấy từ mẫu trung bình được định lượng theo đúng khối lượng hay thể tích quy định.

Mẫu được đồng nhất, định lượng và pha loãng trong điều kiện vô trùng. Chuẩn bị phần mẫu thử, dung dịch pha loãng đầu tiên và các dung dịch pha loãng tiếp theo quy định hoặc liên quan đến sản phẩm cần kiểm tra.

Pha loãng mẫu theo phương pháp pha loãng thập phân với dịch pha loãng vô trùng ở các nồng độ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} (Hình 3.2). Nếu nghi ngờ số lượng *Coliforms* trong mẫu quá cao thì phải sử dụng các mẫu pha loãng có bậc pha loãng cao hơn.



Hình 14.2. Pha loãng mẫu thập phân

3.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Khử trùng dụng cụ/môi trường/người tiến hành thao tác	Tủ cấy có đèn khử trùng Cồn khử trùng 70 ⁰ Bông thấm nước, đèn cồn, pipet, giá để ống nghiệm	Môi trường/dụng cụ/người tiến hành thao tác được vô trùng đúng theo yêu cầu
2	Đồng nhất mẫu	Thiết bị đồng nhất mẫu Mẫu thử	Mẫu đồng nhất Thời gian đập mẫu phụ thuộc vào tính chất cơ lý của mẫu Không chế thời gian
3	Định lượng (cân, hút) mẫu thử	Cân phân tích, pipet Mẫu thử	Sử dụng dụng cụ phù hợp với dạng mẫu Đầy đủ, đúng định lượng (thể tích, khối lượng) yêu cầu
4	Pha loãng thập phân 10 ⁻¹	Dung dịch pha loãng Mẫu thử Pipet, giá để ống nghiệm Ống nghiệm	Pipet không được tiếp xúc với dung dịch pha loãng Dung dịch pha loãng vô trùng Sử dụng pipet riêng biệt Thời gian thao tác không chế dưới 15 phút Đảm bảo điều kiện vô trùng trong quá trình thao tác
5	Pha loãng mẫu có nồng độ tiếp theo 10 ⁻² 10 ⁻³	Mẫu pha loãng 10 ⁻¹ Pipet, giá để ống nghiệm Ống nghiệm Dung dịch pha loãng	Pipet không được tiếp xúc với môi trường pha loãng Định lượng chính xác 1ml mẫu 10 ⁻¹ Đúng theo trình tự pha loãng Sử dụng pipet riêng biệt cho các độ nồng pha loãng Không chế thời gian thao tác Đảm bảo điều kiện vô

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			trùng khi thao tác Trong 1ml nồng độ pha loãng cuối chứa khoảng dưới 100 tế bào <i>Coliforms</i>
6	Ghi chú nồng độ pha loãng	Bút xạ, các ống mẫu đã pha loãng	Đúng thứ tự nồng độ trên các ống pha loãng

3.3. Các chú ý về an toàn lao động

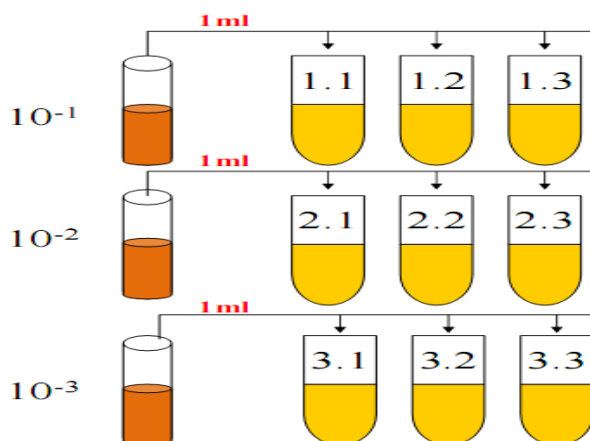
- Khử trùng môi trường/tay trước và sau khi thao tác.
- Chú ý an toàn lao động khi thao tác với đèn cực tím, còn 70⁰, đèn cồn.
- Thực hiện mang đầy đủ các trang bị bảo hộ lao động khi tiến hành tiếp xúc với mẫu.

3.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Điều kiện vô trùng của môi trường thao tác không đảm bảo	Khử trùng không đầy đủ, đúng theo yêu cầu Hóa chất khử trùng bị hư hỏng/hết hạn sử dụng	Tuân thủ đúng theo hướng dẫn Kiểm tra hóa chất khử trùng trước khi sử dụng
2	Mẫu pha loãng bị nhiễm khuẩn	Dùng chung pipet cho các độ pha loãng Môi trường/dụng cụ/người thao tác không đảm bảo vô trùng	Dùng pipet riêng biệt cho từng nồng độ pha loãng Tuân thủ khử trùng đúng theo hướng dẫn
3	Nhầm lẫn nồng độ các mẫu pha loãng	Trình tự pha loãng không đúng theo yêu cầu Không ghi chú nồng độ pha loãng Trình tự xếp đặt các ống mẫu pha loãng không phù hợp	Tuân thủ trình tự đúng theo hướng dẫn Ghi chú nồng độ pha loãng Xếp đặt theo đúng trình tự pha loãng

4. Cây mẫu lên môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc

4.1. Phương pháp cấy mẫu lên môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc



Hình 14.3. Cấy mẫu lên môi trường tăng sinh chọn lọc

Cấy mẫu thử đã pha loãng theo phương pháp MPN lên môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc LSB trong ống nghiệm, với 3 nồng độ và 3 ống lặp lại (hệ 3 x 3 hay 9 ống nghiệm) (Hình 3.3).

4.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Hút 1ml mẫu pha loãng thập phân	Tủ cấy có đèn khử trùng Pipet đã khử trùng Bông thấm nước, đèn cồn Ống mẫu đã pha loãng	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Hút chính xác 1ml
2	Chuyển 1ml mẫu pha loãng vào ống môi trường tăng sinh chọn lọc LSB	Tủ cấy có đèn khử trùng Pipet đã khử trùng Cồn khử trùng 70 ⁰ Bông thấm nước, đèn cồn Ống nghiệm có mẫu đã pha loãng 10 ⁻¹ Ống môi trường tăng sinh chọn lọc LSB	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Hé mở nút bông chuyển mẫu vào ống nghiệm Vô trùng nút bông, miệng ống nghiệm trước/sau khi mở/đóng nút Nhẹ nhàng, cẩn thận, không rơi vãi
3	Thực hiện lặp lại với các ống cùng nồng độ pha loãng 10 ⁻¹	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn Môi trường LSB Ống nghiệm có mẫu đã pha loãng 10 ⁻¹	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Cấy đúng nồng độ mẫu Vô trùng nút bông miệng ống nghiệm trước/sau khi

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
		Pipet đã khử trùng	mở/đóng nút Nhẹ nhàng, cẩn thận, không rơi vãi Cấy lặp lại 3 ống trên cùng một nồng độ 10^{-1}
4	Thực hiện lặp lại với các ống trên nồng độ pha loãng 10^{-2} , 10^{-3}	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn Môi trường LSB Ống nghiệm có mẫu đã pha loãng 10^{-2} , 10^{-3} Pipet đã khử trùng	Môi trường/dụng cụ/người tiến hành thao tác vô trùng Cấy đúng nồng độ mẫu Vô trùng nút bông miệng ống nghiệm trước/sau khi mở/đóng nút Nhẹ nhàng, cẩn thận, không rơi vãi Cấy lặp lại 3 ống/nồng độ
5	Bao gói đầu ống nghiệm	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn Ống nghiệm, bao gói	Bao gói riêng biệt từng ống Chỉ bao gói trên đầu ống nghiệm
6	Ghi nhãn	Ống nghiệm, bút xóa	Ghi nhãn đầy đủ thông tin
7	Làm mẫu trắng	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn Môi trường LSB Pipet đã khử trùng Ống nghiệm chứa dung dịch pha loãng vô trùng	Môi trường/dụng cụ/người tiến hành thao tác vô trùng Hút chính xác 1ml dung dịch pha loãng Đảm bảo quá trình thao tác vô trùng Làm song song và đầy đủ các điều kiện như đối với mẫu

4.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Khử trùng tay trước và sau khi thao tác.
- Chú ý an toàn lao động khi thao tác với đèn cực tím, cồn 70^0 , đèn cồn.
- Thao tác cấy mẫu theo phương pháp MPN phải nhẹ nhàng, cẩn thận theo đúng trình tự.

4.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Môi trường LSB không đảm bảo yêu cầu cho phân tích	Ống môi trường LSB có ống Durham nổi/ môi trường bị đục	Kiểm tra độ vô trùng của môi trường LSB trước khi thao tác (chọn ống có ống Durham chìm/ môi trường trong suốt)
2	Nhiễm vi sinh vật lần 2 vào mẫu/vi sinh vật phát triển thêm trong mẫu	Khử trùng không đầy đủ, đúng theo yêu cầu Điều kiện vô trùng của môi trường thao tác không đảm bảo	Tuân thủ quy trình vô trùng theo đúng theo hướng dẫn
3	Điều kiện vô trùng của môi trường thao tác không đảm bảo	Khử trùng không đầy đủ, đúng theo yêu cầu	Tuân thủ đúng theo hướng dẫn khử trùng môi trường
4	Ống LSB cấy mẫu trắng có hiện tượng dương tính (ống Durham nổi/ môi trường bị đục)	Do môi trường/dụng cụ/ người thao tác không đảm bảo vô trùng Cấy nhầm mẫu thử	Tuân thủ khử trùng đúng theo hướng dẫn Cấy dung dịch pha loãng vô trùng
5	Ống LSB cấy mẫu thử nghiệm âm tính	Do mẫu thử nghiệm Do điều kiện thử nghiệm	Làm lại Tuân thủ nghiêm ngặt quá trình thao tác

5. Nuôi ủ

5.1. Phương pháp nuôi ủ

Các ống mẫu cấy được nuôi ủ ở $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ trong thời gian 48 giờ. Theo dõi, quan sát, ghi nhận số ống có sinh hơi (ống Durham nổi), đổi màu môi trường để định tính sự hiện diện của vi khuẩn trong các ống thử nghiệm.

5.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Cài đặt thông số kỹ thuật nuôi ủ (nhiệt độ, thời gian)	Tủ ấm Các ống LSB cấy mẫu thử, Mẫu trắng	Đúng thông số kỹ thuật yêu cầu ($37 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 24 - 48 giờ)
2	Xếp đặt các ống cấy vào	Tủ ấm	Các ống nghiệm tách

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
	tủ ẩm	Các ống LSB cấy mẫu thử, Mẫu trắng	rời nhau, cách xa thành và nóc tủ ẩm
3	Theo dõi thời gian và nhiệt độ trong quá trình nuôi ủ	Tủ ẩm Các ống LSB cấy mẫu thử Mẫu trắng	Mẫu ủ phải đạt nhiệt độ ủ trong vòng 2 giờ Định kỳ 24 giờ kiểm tra nhiệt độ, độ ẩm, độ thông hơi của tủ ẩm.

5.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Kiểm tra tình trạng thiết bị trước khi sử dụng
- Khử trùng tay trước và sau khi thao tác.
- Chú ý an toàn lao động khi thao tác với tủ ẩm.
- Thao tác phải nhẹ nhàng, cẩn thận.
- Liên tục theo dõi tình trạng hoạt động của thiết bị.

5.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Các ống nghiệm bị ngã đổ	Các ống nghiệm bị xếp đồn, chồng lên nhau Các ống nghiệm xếp đặt sát thành và nóc tủ ẩm	Sắp xếp lại vị trí đặt để các ống theo thứ tự, riêng biệt Các ống nghiệm đặt cách xa thành và nóc tủ ẩm
2	Các ống nghiệm cấy mẫu thử không phát triển theo dự định	Nhiệt độ tủ ẩm và thời gian không đảm bảo theo yêu cầu	Kiểm tra tủ ẩm, cài đặt lại thông số kỹ thuật Theo dõi hoạt động tủ ẩm thường xuyên
3	Nhiễm vi sinh vật lần 2 vào mẫu hoặc vi sinh vật phát triển thêm trong mẫu	Khử trùng không đầy đủ, đúng theo yêu cầu Điều kiện vô trùng của môi trường thao tác không đảm bảo	Tuân thủ quy trình vô trùng theo đúng theo hướng dẫn

6. Cấy chuyển mẫu lên môi trường thử nghiệm khẳng định

6.1. Phương pháp cấy chuyển mẫu lên môi trường thử nghiệm khẳng định

Trong trường hợp mẫu thử có chứa các nguồn carbon khác không phải lactose, để tránh trường hợp vi sinh vật khác trong mẫu sử dụng nguồn carbon này để lên men và tạo thành khuẩn lạc có hình dạng tương tự *Coliforms* cần thực hiện thêm bước thử nghiệm khẳng định.

Quan sát, chọn các ống nghiệm LSB nuôi cấy mẫu (+), dùng que cấy vòng cấy chuyển dịch mẫu thử sang các ống nghiệm chứa môi trường BGBL. Nuôi ủ ở nhiệt độ $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ trong thời gian 48 giờ.

Kết quả khẳng định là dương tính (+) khi vi khuẩn tăng trưởng làm đục môi trường và sinh hơi trong ống Durham làm ống Durham nổi lên.

6.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Quan sát, xác định các ống nghiệm LBS (+)	Tủ cấy có đèn khử trùng Cồn khử trùng 70^0 Bông thấm nước, đèn cồn Ống cấy mẫu trên môi trường LSB	Môi trường/dụng cụ/người tiến hành thao tác vô trùng Môi trường LSB đục, ống Durham nổi (có sinh hơi)
2	Cấy chuyển lên môi trường BGBL	Môi trường BGBL Tủ cấy có đèn khử trùng Đèn cồn, bông thấm nước, cồn khử trùng 70^0 Que cấy vòng Ống cấy mẫu trên môi trường LSB (+)	Môi trường/dụng cụ/người tiến hành thao tác vô trùng Môi trường LSB đục, ống Durham nổi Môi trường BGBL vô trùng có ống Durham chìm
3	Làm mẫu trắng đối chứng	Môi trường BGBL Tủ cấy có đèn khử trùng Đèn cồn, bông thấm nước, cồn khử trùng 70^0 Dung dịch pha loãng vô trùng	Làm song song và đầy đủ điều kiện như đối với mẫu thử Môi trường BGBL vô trùng có ống Durham chìm
4	Nuôi ủ	Ống nghiệm môi trường BGBL có cấy mẫu thử nghiệm Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn	Điều kiện vô trùng Nhiệt độ và thời gian theo quy định ($37 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 24 – 48 giờ).
5	Quan sát kết quả thử	Tủ cấy có đèn khử trùng,	Ống mẫu trắng (-) (môi

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
	nghiệm	đèn cồn Ống nghiệm môi trường BGBL có cấy mẫu thử nghiệm	trường trong suốt, ống Durham chìm) Các ống môi trường BGBL có cấy mẫu thử nghiệm (+) (môi trường bị đục, ống Durham nổi)

6.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Khử trùng tay trước khi thao tác.
- Chú ý an toàn lao động khi thao tác với đèn cực tím, cồn 70⁰, đèn cồn.
- Thao tác phải nhẹ nhàng, cẩn thận theo đúng trình tự cấy chuyển mẫu thử nghiệm.

6.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Môi trường BGBL không đảm bảo yêu cầu cho phản ứng thử nghiệm	Ống môi trường BGBL có ống Durham nổi/ môi trường bị đục	Kiểm tra môi trường BGBL trước khi thao tác Chọn ống có ống Durham chìm, môi trường trong suốt
2	Điều kiện vô trùng của môi trường thao tác không đảm bảo	Khử trùng không đầy đủ, đúng theo yêu cầu	Tuân thủ đúng theo hướng dẫn
3	Ống BGBL cấy mẫu trắng có hiện tượng (+) (ống Durham nổi/ môi trường bị đục)	Do điều kiện thao tác không đảm bảo vô trùng Cấy nhầm mẫu thử	Tuân thủ khử trùng đúng theo hướng dẫn Cấy dung dịch pha loãng vô trùng
4	Ống BGBL cấy mẫu thử nghiệm có hiện tượng (-)	Quan sát, chọn các ống cấy chuyển không phù hợp, có các đặc điểm theo yêu cầu	Làm lại, chọn các ống cấy phù hợp, đúng theo yêu cầu

7. Quan sát, đọc, tính kết quả

7.1. Phương pháp quan sát, đọc, tính kết quả

Sau giai đoạn nuôi ủ tăng sinh, các ống cấy được lấy ra quan sát.

Nếu có môi trường bị đục, ống Durham nổi: dương tính (+). Không có môi trường bị đục, ống Durham chìm: âm tính (-).

Mẫu trắng yêu cầu âm tính. Các mẫu thử dương tính (+).

Đếm số ống dương tính (+) trên từng nồng độ mẫu pha loãng trên môi trường LSB.

Đếm số ống dương tính (+) trên từng nồng độ mẫu pha loãng trên môi trường BGBL.
Tra bảng tra MPN tính kết quả. (Hình 3.4)



Môi trường LSB (-)



Môi trường LSB (+)



Môi trường BGBL (-)



Môi trường BGBL (+)

Số lượng ống dương tính Số ml mẫu sử dụng			Số MPN/100ml
10	1	0,1	
0	0	0	-
0	0	1	3
0	0	2	6
0	0	3	9
...	...	...	
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	-

Bảng tra MPN (loạt 3 x 3 ống)

Hình 14.4. Quan sát, tính kết quả xác định Coliforms

7.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Kiểm tra mẫu trắng	Ống cấy mẫu trắng	Mẫu trắng âm tính (-)
2	Quan sát các ống cấy mẫu thử	Các ống cấy mẫu thử	Trường hợp không thể đọc kết quả ngay sau khi thời gian ấp chấm dứt, có thể giữ ống ở 4°C không quá 24h. Nhận dạng chính xác các ống (+) đặc trưng: môi trường đục, ống Durham nổi.

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
3	Đếm số lượng ống (+) trên từng nồng độ mẫu pha loãng	Các ống cấy mẫu thử	Đếm chính xác số lượng ống (+) trên từng nồng độ mẫu pha loãng
4	Tính kết quả	Công thức tính	Đúng công thức, Đủ các thông số Chính xác

7.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Khử trùng tay trước và sau khi thao tác.
- Đảm bảo an toàn sinh học cho người thao tác.
- Thao tác phải nhẹ nhàng, cẩn thận.

7.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Mẫu trắng dương tính (môi trường đục, ống Durham nổi)	Mẫu trắng bị nhiễm khuẩn do quá trình thao tác không đảm bảo vô trùng	Làm lại, chú ý kỹ điều kiện vô trùng của quá trình thao tác
2	Các ống cấy mẫu thử (-) (môi trường trong, ống Durham chìm)	Độ pha loãng mẫu không phù hợp. Quá trình thao tác không đảm bảo vô trùng	Làm lại, chọn độ pha loãng phù hợp với mẫu thử nghiệm. Làm lại, chú ý kỹ điều kiện vô trùng của quá trình thao tác

8. Báo cáo thử nghiệm

8.1. Phương pháp viết báo cáo thử nghiệm

Ghi chép chính xác, đầy đủ, cập nhật kết quả vào phiếu ghi kết quả và sổ lưu tại phòng kiểm nghiệm.

Viết đầy đủ các nội dung theo yêu cầu trong mẫu báo cáo thử nghiệm.

8.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Ghi kết quả vào phiếu và sổ lưu	Phiếu ghi kết quả Sổ lưu	Cập nhật, đầy đủ Chính xác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
2	Báo cáo thử nghiệm	Mẫu báo cáo thử nghiệm	Ghi đầy đủ các nội dung theo yêu cầu Đảm bảo độ chênh lệch kết quả thử nghiệm trong mức cho phép

9. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị

9.1. Phương pháp vệ sinh

Tất cả các dụng cụ, thiết bị đã sử dụng phải được vệ sinh phù hợp (thải bỏ, khử nhiễm, khử trùng, rửa), sạch sẽ, sắp xếp ngăn nắp, đúng nơi quy định.

9.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Thải bỏ dung dịch mẫu pha loãng/môi trường nuôi cấy mẫu/mẫu trắng trong các ống nghiệm	Tất cả các dụng cụ đã sử dụng	Không còn chất thải bỏ bám bẩn trên dụng cụ Chất thải được loại bỏ đúng nơi quy định theo yêu cầu
2	Khử nhiễm, khử trùng dụng cụ	Tất cả các dụng cụ đã sử dụng Túi chất dẻo đựng dụng cụ chuyên dùng cho hấp áp lực Nồi hấp áp lực, tủ sấy Dung dịch khử nhiễm, khử trùng	Đúng đối tượng theo quy định Đúng thời gian quy định Sử dụng đúng dung dịch khử nhiễm, khử trùng Dung dịch khử nhiễm, khử trùng được chuẩn bị phù hợp và đúng nồng độ
3	Rửa, vệ sinh dụng cụ, thiết bị	Tất cả dụng cụ, thiết bị đã sử dụng	Vệ sinh phù hợp, sạch sẽ
4	Sắp xếp dụng cụ, thiết bị	Tất cả dụng cụ, thiết bị đã sử dụng	Sắp xếp ngăn nắp, đúng nơi quy định.

9.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Đảm bảo an toàn sinh học cho người thao tác.
- Thao tác phải nhẹ nhàng, cẩn thận.

9.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Dụng cụ còn bám bẩn dung dịch, môi trường	Quá trình loại bỏ không cẩn thận, sạch sẽ	Làm lại, chú ý kỹ điều kiện loại bỏ môi trường Tránh tiếp xúc trực tiếp với người thao tác
2	Bể vỡ dụng cụ	Thao tác không cẩn thận, nhẹ nhàng	Loại bỏ dụng cụ bể vỡ Chú ý thao tác nhẹ nhàng, cẩn thận

10. Thực hành xác định Coliforms

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
1	Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị	Các dụng cụ thí nghiệm Các thiết bị Các hóa chất khử trùng	Các dụng cụ đảm bảo vô trùng Thiết bị trong tình trạng tốt, sẵn sàng sử dụng	Vận hành thiết bị (tủ sấy, nồi hấp áp lực, cân phân tích) an toàn Chú ý an toàn khi tiếp xúc với hóa chất khử trùng
2	Chuẩn bị môi trường, dịch pha loãng	Các hóa chất, nguyên vật liệu pha môi trường, dịch pha loãng Nồi hấp áp lực, bếp điện, cân phân tích	Môi trường, dịch pha loãng vô trùng	Vận hành thiết bị (nồi hấp áp lực, bếp điện, cân phân tích) an toàn Chú ý an toàn khi tiếp xúc với hóa chất, không để dính vào tay
3	Chuẩn bị mẫu thử	Mẫu thử nghiệm Dung dịch pha loãng vô trùng Các dụng cụ thí nghiệm	Độ pha loãng phù hợp với mẫu Thao tác chuẩn xác, đúng trình tự Mẫu pha loãng đầy đủ nồng độ, xếp đúng thứ tự Đảm bảo vô trùng	Chú ý an toàn khi tiếp xúc với mẫu thử

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
4	Cấy mẫu lên môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc	Mẫu thử nghiệm pha loãng Môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc vô trùng Tủ cấy, pipet, đĩa petri	Cấy đúng nồng độ pha loãng Cấy đúng số lần lặp lại trên các nồng độ mẫu pha loãng Làm mẫu trắng đúng kỹ thuật yêu cầu Thao tác chuẩn xác, đúng trình tự, đảm bảo vô trùng	Chú ý an toàn khi tiếp xúc với mẫu thử
5	Nuôi ủ	Các ống cấy mẫu thử tăng sinh chọn lọc Mẫu trắng Tủ ấm	Đúng thông số kỹ thuật yêu cầu	Vận hành, theo dõi tình trạng hoạt động của tủ ấm an toàn
6	Cấy chuyển lên môi trường thử nghiệm khẳng định	Mẫu nuôi cấy tăng sinh chọn lọc Môi trường thử nghiệm khẳng định vô trùng Tủ cấy, pipet,	Thực hiện đối với các ống tăng sinh chọn lọc (+) Thao tác chuẩn xác, đúng trình tự Làm mẫu trắng theo yêu cầu Đảm bảo vô trùng	Chú ý an toàn khi tiếp xúc với mẫu thử
7	Quan sát, đọc, tính kết quả	Các ống cấy mẫu Mẫu trắng	Chính xác Đảm bảo vô trùng	Đảm bảo an toàn sinh học cho người thao tác
8	Báo cáo thử nghiệm	Phiếu ghi kết quả, sổ lưu Mẫu báo cáo thử nghiệm	Ghi đầy đủ, cập nhật, chính xác Báo cáo đầy đủ theo yêu cầu	
9	Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị	Tất cả dụng cụ, thiết bị đã sử	Vệ sinh phù hợp, sạch sẽ và sắp xếp	Bề vỡ dụng cụ Vệ sinh, lau chùi,

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
		dụng	ngăn nắp	sắp xếp dụng cụ, thiết bị theo hướng dẫn

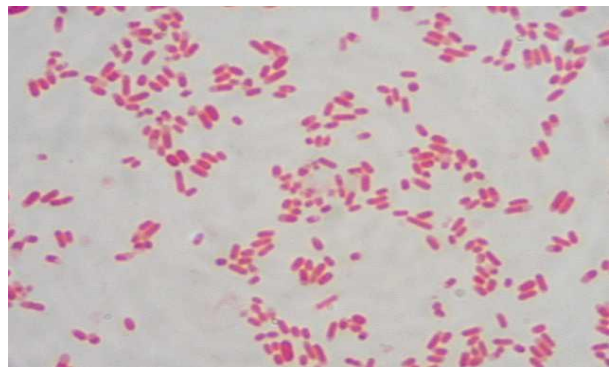
BÀI 15. XÁC ĐỊNH *E.COLI*

Mục tiêu

- Trình bày được phương pháp sử dụng trong phân tích chỉ tiêu *E.Coli*;
- Lựa chọn đúng thiết bị, dụng cụ, hóa chất, nguyên vật liệu cần dùng trong phân tích;
- Thực hiện đúng quy trình phân tích chỉ tiêu *E.Coli* trong nước;
- Nhận dạng đúng các đặc điểm của chỉ tiêu;
- Tính toán kết quả và đánh giá chất lượng chỉ tiêu *E.Coli* trong nước;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, có ý thức bảo vệ thiết bị trong phòng phân tích vi sinh.

Nguyên tắc xác định chỉ tiêu *E.coli*

Pha loãng mẫu ở nồng độ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} theo phương pháp MPN với 3 nồng độ và 3 ống lặp lại (hệ 3×3 với 9 ống nghiệm). Cấy một lượng mẫu xác định trên môi trường chọn lọc LSB, ủ ở $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ trong 48 giờ. Theo dõi, quan sát, ghi nhận số ống (+) có sinh hơi (ống Durham nổi), đổi màu môi trường để định tính sự hiện diện của vi khuẩn trong các ống thử nghiệm.



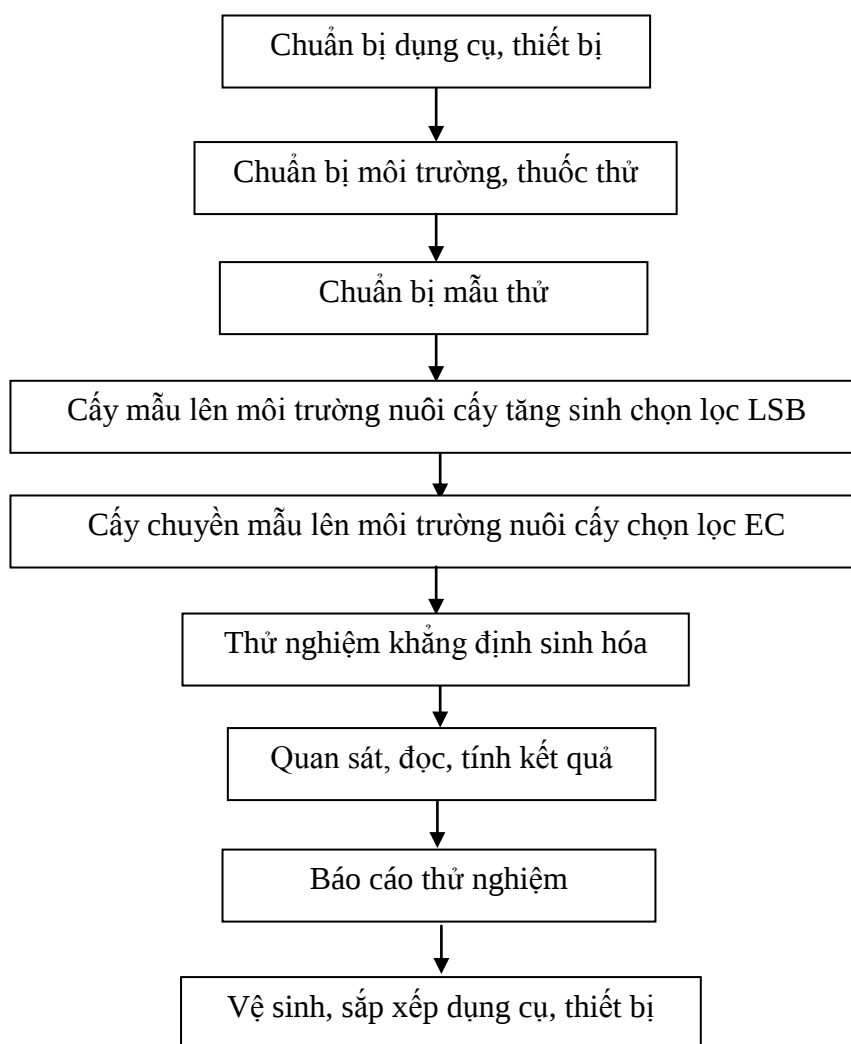
Hình 15.1. Hình thái khuẩn lạc và tế bào *E.coli*

Cấy chuyển mẫu thử nuôi cấy trên môi trường chọn lọc EC ủ ở $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ trong thời gian 24 giờ, quan sát, ghi nhận số ống (+). Cấy lên môi trường thạch EMB, ủ ở 37°C trong thời gian 24 giờ, chọn các khuẩn lạc tròn dẹt hình đĩa và có ánh kim xanh cấy vào môi trường Trypton, MR-VP, SC Citrat, ủ ở $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ trong thời gian 24 giờ.

Thực hiện thử nghiệm phản ứng IMViC (Indol, Methyl Red, Voges Proskauer, Citrat). Đếm số ống EC (+) và IMViC (+ + - -), tra bảng tra MPN để xác định số lượng *E.coli*.

Quy trình xác định

Quy trình phân tích chỉ tiêu bao gồm các bước: chuẩn bị mẫu thử, cấy mẫu lên bề mặt môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc, cấy chuyển mẫu lên môi trường nuôi cấy chọn lọc, thử nghiệm khẳng định. (Hình 15.2).



Hình 15.2. Quy trình xác định *E.coli*

1. Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị

1.1. Phương pháp chuẩn bị dụng cụ, thiết bị

- Cân phân tích
- Tủ sấy
- Nồi hấp áp lực
- Tủ ấm (có khả năng hoạt động ở $30 - 37 \pm 1^{\circ}\text{C}$)
- Tủ cấy có đèn khử trùng
- Pipet (có dung tích danh định 1ml được chia vạch 1ml, 10ml)
- Nồi đun cách thủy (có thể hoạt động ở nhiệt độ $44 - 47^{\circ}\text{C}$)
- Máy đập mẫu (Stomacher)
- Máy trộn mẫu (Vortex mixer)
- Tủ lạnh
- Lò vi sóng
- Thiết bị lọc màng khử trùng dung dịch

- Máy đo pH (có độ chính xác $\pm 0,1$ đơn vị ở 25°C)
- Ống nghiệm (kích thước khoảng 16mm x 160mm)
- Ống Durham (có kích thước phù hợp với ống nghiệm)
- Bình tam giác có dung tích thích hợp và không lớn hơn 500ml
- Kẹp inox
- Đèn cồn
- Máy nghiền mẫu đồng thể
- Que cấy vòng (bằng Pt hoặc Ni- Cr, đường kính khoảng 3mm, hoặc loại vòng dùng một lần).

Dụng cụ thí nghiệm và các vật liệu khác để sử dụng trong phân tích phải có thiết kế phù hợp, được sử dụng đúng mục đích và được chuẩn bị (bao gói, khử trùng) đảm bảo được độ sạch và vô trùng cho đến khi sử dụng.

1.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Làm sạch dụng cụ	Các dụng cụ thí nghiệm, dụng cụ vệ sinh Dung dịch vệ sinh tẩy rửa/khử trùng	Đảm bảo độ sạch về vật lý, hóa học và sinh học
2	Làm khô dụng cụ	Các dụng cụ thí nghiệm	Khô ráo hoàn toàn
3	Bao gói dụng cụ	Các dụng cụ thí nghiệm Vật liệu bao gói dụng cụ (giấy, giấy bạc, hộp kín)	Vật liệu bao gói phù hợp với dụng cụ, phương pháp khử trùng Dụng cụ được bao gói kín
4	Khử trùng dụng cụ	Các dụng cụ thí nghiệm Tủ sấy, nồi hấp áp lực Dung dịch khử trùng	Đúng yêu cầu kỹ thuật (nhiệt độ, thời gian) theo chế độ khử trùng Dụng cụ sau khi sấy có giấy bao gói có màu hơi vàng
5	Sử dụng dụng cụ	Các dụng cụ thí nghiệm	Dụng cụ còn nguyên bao gói kín đến khi sử dụng Các dụng cụ được sử dụng phù hợp, đúng

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			mục đích
6	Bảo quản dụng cụ	Các dụng cụ thí nghiệm	Được bảo quản trong các vật chứa sạch, trong điều kiện vô trùng Ghi thời gian khử trùng trên mỗi bao bì của dụng cụ

1.3. Các chú ý về an toàn lao động

Khi sử dụng tủ sấy, nồi hấp áp lực, dung dịch khử trùng phải theo đúng hướng dẫn như:

- Kiểm tra tình trạng thiết bị trước khi sử dụng.
- Cài đặt các thông số kỹ thuật đúng theo yêu cầu.
- Thao tác vận hành thiết bị phải nhẹ nhàng, cẩn thận, tuân thủ theo đúng hướng dẫn.
- Phải có người theo dõi trong suốt quá trình thiết bị hoạt động.
- Đảm bảo an toàn khi tiếp xúc với các dung dịch khử trùng.

1.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Dụng cụ bị nhiễm khuẩn do khử trùng	Thực hiện chế độ khử trùng không đảm bảo theo yêu cầu kỹ thuật	Cài đặt đúng nhiệt độ, thời gian quy định Tính đủ thời gian khử trùng dụng cụ từ khi đạt nhiệt độ yêu cầu
2	Dụng cụ bị nứt, vỡ sau khi sấy	Bị sốc nhiệt giữa bên trong và bên ngoài tủ sấy	Mở tủ cho nhiệt độ hạ xuống đến 60°C, cân bằng với nhiệt độ môi trường mới lấy dụng cụ ra
3	Dụng cụ bị ướt, bị rách bao bì sau khử trùng	Bao bì bao gói không phù hợp Bao gói không đúng kỹ thuật	Chọn vật liệu bao gói bao bì phù hợp theo phương pháp khử trùng Bao gói đúng theo yêu cầu kỹ thuật
4	Dụng cụ bị nhiễm khuẩn do bảo quản	Dụng cụ bị hở/rách bao bì khi bảo quản	Dụng cụ được bảo quản trong các điều kiện vô trùng,

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
			giữ nguyên bao bì, được bảo quản trong các vật chứa sạch
5	Dụng cụ đã khử trùng bị lẫn loại với dụng cụ chưa khử trùng	Dụng cụ đã khử trùng để chung với dụng cụ chưa khử trùng	Ghi thời gian khử trùng ngay trên mỗi bao bì dụng cụ Đề riêng biệt và ghi ký hiệu phân biệt giữa dụng cụ đã khử trùng và chưa khử trùng.

2. Chuẩn bị môi trường, dịch pha loãng

2.1. Phương pháp chuẩn bị môi trường, dịch pha loãng

- Môi trường tăng sinh chọn lọc LSB (Lauryl Sulphate Broth) được phân phối vào trong các ống nghiệm, mỗi ống 10ml và có ống Durham đặt ngược bên trong. Khử trùng ở 121⁰C trong 15 phút. Sau khi khử trùng phải đảm bảo không có bọt khí trong các ống Durham ngược.

- Môi trường chọn lọc EC (*E.coli* Medium) được phân phối vào trong các ống nghiệm, mỗi ống 10ml và có ống Durham đặt ngược bên trong. Khử trùng ở 121⁰C trong 15 phút. Sau khi khử trùng phải đảm bảo không có bọt khí trong các ống Durham ngược.

- Môi trường chọn lọc EMB (Eosin Methylen Blue Agar).

- Môi trường Trypton được phân phối vào trong các ống nghiệm, mỗi ống. Khử trùng ở 121⁰C trong 15 phút.

- Thuốc thử Kovacs (Indol) chứa 4 - Dimethylaminobenzaldehyd trong cồn bằng cách đun nhẹ trong nồi cách thủy, duy trì ở nhiệt độ khoảng từ 50 - 55⁰C. Làm nguội và thêm acid. Bảo quản tránh ánh sáng và giữ ở nhiệt độ khoảng 4⁰C. Thuốc thử phải có màu vàng nhạt hoặc nâu nhạt.

- Môi trường MR – VP Broth (Glucose Phosphat) được phân phối vào trong các ống nghiệm, mỗi ống 10ml.

- Môi trường SCA (Simmons Citrat Agar)

- Thuốc thử Methyl Red

- Thuốc thử α – naphthol.

2.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Tính toán định lượng hóa chất, nguyên vật	Bút, máy tính	Tính toán định lượng hợp

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
	liệu pha môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử theo nhu cầu sử dụng	Bảng thành phần môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử	lý theo nhu cầu sử dụng Tính đúng, đầy đủ các loại hóa chất, nguyên vật liệu trong thành phần môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử
2	Chuẩn bị dụng cụ, hóa chất, nguyên vật liệu	Dụng cụ thí nghiệm, hóa chất, nguyên vật liệu	Đầy đủ, đúng chủng loại yêu cầu Các hóa chất phải đảm bảo về độ tinh khiết, còn trong thời hạn sử dụng
3	Cân (hút) hóa chất, nguyên vật liệu (môi trường hoàn chỉnh)	Các hóa chất, nguyên vật liệu pha chế môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử Cân phân tích Cốc thủy tinh, đĩa thủy tinh	Đầy đủ thành phần Đúng định lượng (thể tích, khối lượng) theo yêu cầu Giữ được tính chọn lọc và đặc trưng của môi trường
4	Đun nóng môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử	Các hóa chất, nguyên vật liệu pha chế môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử Nước cất Bếp điện, nồi đun, đĩa thủy tinh	Đun nóng nhẹ trên nồi đun cách thủy đúng trình tự theo hướng dẫn Đảm bảo không có sự tương tác giữa các thành phần (tạo phản ứng kết tủa với nhau) Theo nguyên tắc phối trộn thể tích tăng dần Phải nấu sôi với những môi trường có thành phần agar Các hóa chất, nguyên vật liệu/môi trường hoàn chỉnh hòa tan hoàn toàn Môi trường đồng nhất
5	Làm trong	Bông lọc, giấy lọc, vải thưa, phễu lọc nóng Lòng trắng trứng	Làm trong, để lắng rồi mới lọc Trong suốt

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
6	Chỉnh pH	Giấy đo pH (máy đo pH) Hóa chất điều chỉnh pH	Đúng pH theo yêu cầu của từng loại môi trường, dung dịch, thuốc thử Chỉnh pH sau khi khử trùng
7	Phân phối vào dụng cụ chứa	Ống nghiệm, bình tam giác, đĩa petri, pipet, phễu thủy tinh Bông không thấm nước Môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử	Đúng loại dụng cụ, thể tích yêu cầu theo mục đích sử dụng Lượng môi trường lỏng phân phối chính xác 10ml/ống nghiệm có chứa ống Durham Môi trường rắn được rót vào các bình trước khi đông Rót nhanh, gọn, không rơi vãi Môi trường không được dây dính lên nắp/thành ống nghiệm, bình
8	Khử trùng môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử	Nồi hấp áp lực Thiết bị lọc màng Môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử	Vị trí đặt để, sắp xếp gọn gàng, hợp lý Chế độ và phương pháp khử trùng khác nhau tùy theo tính chất và điều kiện của từng loại môi trường dịch pha loãng, thuốc thử Cài đặt đúng thông số kỹ thuật khử trùng theo yêu cầu (nhiệt độ, thời gian) Vận hành thiết bị đúng theo hướng dẫn Ống Durham trong môi trường lỏng không có bọt khí sau khử trùng
9	Sử dụng môi trường, dịch pha loãng, thuốc	Môi trường, thuốc thử đã khử trùng	Kiểm tra lại độ vô trùng của môi trường, dịch pha

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
	thử		loãng, hoạt tính của thuốc thử tại thời điểm sử dụng Sử dụng những ống môi trường lỏng có ống Durham chìm, đảm bảo vô trùng, thuốc thử có hoạt tính tốt
10	Lưu giữ môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử	Các môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử đã khử trùng Tủ lạnh	Bảo quản theo đúng hướng dẫn, yêu cầu kỹ thuật (nhiệt độ, thời gian, độ vô trùng, độ ẩm) Viết nhãn, thông tin đầy đủ trên dụng cụ đựng môi trường, thuốc thử

2.3. Các chú ý về an toàn lao động

Khi sử dụng nồi hấp áp lực, thiết bị lọc màng phải theo đúng hướng dẫn:

- Kiểm tra tình trạng thiết bị trước khi sử dụng.
- Cài đặt các thông số kỹ thuật đúng theo yêu cầu.
- Thao tác vận hành thiết bị phải nhẹ nhàng, cẩn thận, đúng hướng dẫn.
- Phải có người theo dõi trong suốt quá trình thiết bị hoạt động.

2.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử không đảm bảo yêu cầu kỹ thuật (thành phần, bị hư hỏng, bị đục, kết tủa, lắng cặn..)	Không đúng, thiếu/thừa thành phần, định lượng yêu cầu Trình tự pha chế không tuân theo hướng dẫn Hóa chất pha chế môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử bị hư hỏng/hết hạn sử dụng	Pha đúng, đầy đủ thành phần định lượng theo hướng dẫn Tuân thủ đúng theo hướng dẫn Kiểm tra hóa chất, nguyên vật liệu trước khi sử dụng
2	pH không đúng theo yêu cầu	Dùng chất chỉnh pH không phù hợp Dùng quá lượng chất chỉnh pH	Dùng chất chỉnh pH phù hợp Dùng từng lượng nhỏ Kiểm tra pH trước và

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
			sau khi hấp khử trùng
3	Môi trường, dịch pha loãng, thuốc thử bị bung nút bông, bị trào môi trường ra ngoài sau khi khử trùng	Do thao tác vận hành nồi hấp áp lực không đúng theo hướng dẫn Cài đặt thông số kỹ thuật nồi hấp áp lực không đúng theo hướng dẫn	Vận hành thiết bị đúng theo hướng dẫn Cài đặt thông số tuân thủ đúng theo hướng dẫn
4	Môi trường Trypton, EMB, MR – VP Broth, SCA, thuốc thử bị nhiễm khuẩn do bảo quản	Do quá trình thao tác không đảm bảo vô trùng	Tuân thủ theo đúng yêu cầu kỹ thuật Kiểm tra độ vô trùng của môi trường, thuốc thử trước khi sử dụng
5	Ống Durham nổi trong ống môi trường LSB, EC sau thanh trùng	Thứ tự chuẩn bị môi trường không đúng theo hướng dẫn Chế độ khử trùng không đảm bảo theo yêu cầu	Bỏ ống Durham vào ống nghiệm trước, bổ sung môi trường sau Khử trùng môi trường theo đúng nhiệt độ thời gian yêu cầu

3. Chuẩn bị mẫu thử

3.1. Phương pháp chuẩn bị mẫu thử

Pha loãng mẫu theo phương pháp pha loãng thập phân với dịch pha loãng vô trùng ở các nồng độ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . Nếu nghi ngờ số lượng *E.coli* trong mẫu quá cao thì phải sử dụng các mẫu pha loãng có bậc pha loãng cao hơn.

3.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Khử trùng dụng cụ/môi trường/người tiến hành thao tác	Tủ cấy có đèn khử trùng Cồn khử trùng 70 ⁰ Bông thấm nước, đèn cồn, pipet, giá ống nghiệm	Môi trường/dụng cụ/người tiến hành thao tác được vô trùng đúng theo yêu cầu
2	Đồng nhất mẫu	Thiết bị đồng nhất mẫu Mẫu thử	Mẫu đồng nhất Thời gian đập mẫu phụ thuộc vào tính chất cơ lý của mẫu

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			Không chế thời gian
3	Định lượng (cân, hút) mẫu thử	Cân phân tích, pipet Mẫu thử	Đầy đủ, đúng định lượng (thể tích, khối lượng) yêu cầu
4	Pha loãng thập phân 10^{-1}	Dung dịch pha loãng Mẫu thử Pipet, giá đỡ ống nghiệm Ống nghiệm	Pipet không được tiếp xúc với dung dịch pha loãng Dung dịch pha loãng vô trùng Pha loãng đúng theo trình tự Sử dụng pipet riêng biệt Không chế thời gian thao tác Đảm bảo điều kiện vô trùng trong quá trình thao tác
5	Pha loãng mẫu có nồng độ tiếp theo 10^{-2} 10^{-3}	Mẫu pha loãng 10^{-1} Pipet, giá đỡ ống nghiệm Ống nghiệm Dung dịch pha loãng	Pipet không được tiếp xúc với môi trường pha loãng Định lượng chính xác ml mẫu 10^{-1} Đúng theo trình tự pha loãng Sử dụng pipet riêng biệt cho các độ nồng pha loãng Không chế thời gian thao tác Đảm bảo điều kiện vô trùng khi thao tác
6	Ghi chú nồng độ pha loãng	Bút xạ Các ống chứa các mẫu thử đã pha loãng	Đúng thứ tự nồng độ trên các ống pha loãng

3.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Khử trùng môi trường/tay trước và sau khi thao tác.
- Chú ý an toàn lao động khi thao tác với đèn cực tím, đèn 70⁰, đèn cồn.

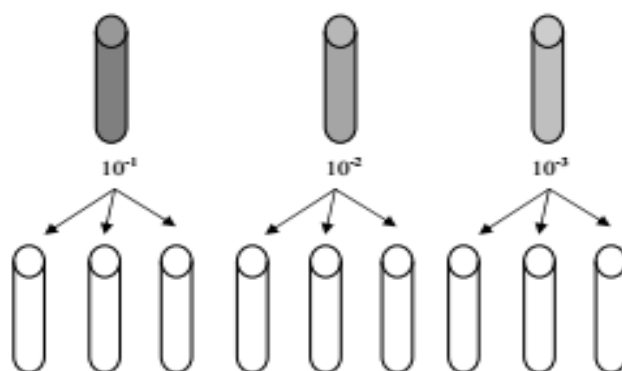
- Thao tác pha loãng thập phân phải nhẹ nhàng, cẩn thận, chính xác theo đúng yêu cầu.
- Thực hiện mang đầy đủ các trang bị bảo hộ lao động khi tiến hành tiếp xúc với mẫu.

3.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Điều kiện vô trùng của môi trường thao tác không đảm bảo	Khử trùng không đầy đủ, đúng theo yêu cầu Hóa chất khử trùng bị hư hỏng/hết hạn sử dụng	Tuân thủ đúng theo hướng dẫn Kiểm tra hóa chất khử trùng trước khi sử dụng
2	Mẫu pha loãng bị nhiễm khuẩn	Dùng chung pipet cho các độ pha loãng Môi trường/dụng cụ/người thao tác không đảm bảo vô trùng	Dùng pipet riêng biệt cho từng nồng độ pha loãng Tuân thủ khử trùng đúng theo hướng dẫn
3	Nhầm lẫn nồng độ các mẫu pha loãng	Trình tự pha loãng không đúng theo yêu cầu Không ghi chú nồng độ pha loãng Trình tự xếp đặt các ống mẫu thử đã pha loãng không phù hợp	Tuân thủ trình tự pha loãng đúng theo hướng dẫn Ghi chú nồng độ pha loãng Xếp đặt theo đúng trình tự pha loãng

4. Cấy mẫu lên môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc LSB

4.1. Phương pháp cấy mẫu lên môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc LSB



Hình 15.2. Cấy mẫu lên môi trường LSB từ các nồng độ mẫu pha loãng

Cấy mẫu thử đã pha loãng theo phương pháp MPN lên môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc LSB trong ống nghiệm, với 3 nồng độ và 3 ống lặp lại (hệ 3×3) (Hình 15.2).

Các mẫu cấy được nuôi ủ ở $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ trong thời gian 24 - 48 giờ. Theo dõi, quan sát, ghi

nhận số ống có sinh hơi (ống Durham nổi), đổi màu môi trường để định tính sự hiện diện của vi khuẩn trong các ống thử nghiệm.

4.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Hút 1ml mẫu pha loãng thập phân	Tủ cấy có đèn khử trùng Pipet đã khử trùng Cồn khử trùng 70 ⁰ Bông thấm nước, đèn cồn Ống nghiệm có mẫu đã pha loãng	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Hút chính xác 1ml mẫu pha loãng
2	Chuyển 1ml mẫu pha loãng vào ống môi trường tăng sinh chọn lọc LSB	Tủ cấy có đèn khử trùng Pipet đã khử trùng Bông thấm nước, đèn cồn, cồn khử trùng 70 ⁰ Ống nghiệm có mẫu đã pha loãng 10 ⁻¹ Ống môi trường tăng sinh chọn lọc LSB	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Vô trùng nút bông miệng ống nghiệm trước/sau khi mở/đóng nút Nhẹ nhàng, cẩn thận, không rơi vãi
3	Thực hiện lặp lại với các ống cùng nồng độ pha loãng 10 ⁻¹	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn, cồn khử trùng 70 ⁰ Môi trường LSB Ống nghiệm có mẫu đã pha loãng 10 ⁻¹ Pipet đã khử trùng	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Cấy đúng nồng độ mẫu Vô trùng nút bông miệng ống nghiệm trước/sau khi mở/đóng nút Nhẹ nhàng, cẩn thận, không rơi vãi Cấy lặp lại 3 ống trên cùng một nồng độ 10 ⁻¹
4	Thực hiện lặp lại với các ống trên nồng độ pha loãng 10 ⁻² , 10 ⁻³	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn, cồn khử trùng 70 ⁰ Môi trường LSB Ống nghiệm có mẫu đã pha loãng 10 ⁻² , 10 ⁻³ Pipet đã khử trùng	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Cấy đúng nồng độ mẫu Vô trùng nút bông miệng ống nghiệm trước/sau khi

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
			mở/đóng nút Nhẹ nhàng, cẩn thận, không rơi vãi Cấy lặp lại 3 ống trên cùng một nồng độ
5	Bao gói đầu ống nghiệm	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn Ống nghiệm, bao gói	Bao gói riêng biệt từng ống Chỉ bao gói trên đầu ống nghiệm
6	Ghi nhãn	Ống nghiệm, bút xóa	Ghi nhãn đầy đủ thông tin
7	Làm mẫu trắng	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn Môi trường LSB Pipet đã khử trùng Ống nghiệm chứa dung dịch pha loãng vô trùng	Môi trường/dụng cụ/người tiến hành thao tác vô trùng Hút chính xác 1ml dung dịch pha loãng Đảm bảo quá trình thao tác vô trùng Làm song song và đầy đủ các điều kiện như đối với mẫu
8	Cài đặt thông số kỹ thuật nuôi ủ (nhiệt độ, thời gian)	Tủ ấm	Đúng thông số kỹ thuật yêu cầu ($37 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 24 - 48 giờ)
9	Xếp đặt các ống cấy vào tủ ấm	Tủ ấm, mẫu trắng Các ống môi trường LSB đã cấy mẫu	Các ống nghiệm tách rời nhau, cách xa thành và nóc tủ ấm
10	Theo dõi thời gian và nhiệt độ trong quá trình nuôi ủ	Tủ ấm Các ống môi trường LSB đã cấy mẫu Mẫu trắng	Mẫu ủ phải đạt nhiệt độ ủ trong vòng 2 giờ Định kỳ 24 giờ kiểm tra nhiệt độ, độ ẩm, độ thông hơi của tủ ấm.

4.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Khử trùng tay trước và sau khi thao tác.
- Chú ý an toàn lao động khi thao tác với đèn cực tím, cồn 70⁰, đèn cồn.

- Thao tác cấy mẫu theo phương pháp MPN phải nhẹ nhàng, cẩn thận theo đúng trình tự.

4.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
1	Môi trường LSB không đảm bảo yêu cầu cho phân tích	Ống môi trường LSB có ống Durham nổi/ môi trường bị đục	Kiểm tra độ vô trùng của môi trường LSB trước khi thao tác (chọn ống có ống Durham chìm/ môi trường trong suốt)
2	Nhiễm vi sinh vật lần 2 vào mẫu/vi sinh vật phát triển thêm trong mẫu	Khử trùng không đầy đủ, đúng theo yêu cầu Điều kiện vô trùng của môi trường thao tác không đảm bảo	Tuân thủ quy trình vô trùng theo đúng theo hướng dẫn
3	Điều kiện vô trùng môi trường thao tác không đảm bảo	Khử trùng không đầy đủ, đúng theo yêu cầu	Tuân thủ đúng theo hướng dẫn khử trùng môi trường
4	Ống LSB cấy mẫu trắng có hiện tượng (+) (ống Durham nổi/ môi trường bị đục)	Do môi trường/dụng cụ/ người thao tác không đảm bảo vô trùng Cấy nhầm mẫu thử	Tuân thủ khử trùng đúng theo hướng dẫn Cấy dung dịch pha loãng vô trùng
5	Ống LSB cấy mẫu thử nghiệm (-)	Do mẫu thử nghiệm Do điều kiện thử nghiệm	Làm lại Tuân thủ nghiêm ngặt quá trình thao tác
6	Các ống nghiệm bị ngã đổ	Các ống nghiệm bị xếp dòn, chồng lên nhau Các ống nghiệm xếp đặt sát thành và nút tủ ấm	Sắp xếp lại vị trí đặt để các ống theo thứ tự, riêng biệt Các ống nghiệm đặt cách xa thành và nút tủ ấm
7	Các ống nghiệm cấy mẫu thử không phát triển theo dự định	Nhiệt độ tủ ấm và thời gian không đảm bảo theo yêu cầu	Kiểm tra tủ ấm, cài đặt lại thông số kỹ thuật Theo dõi hoạt động tủ ấm thường xuyên

5. Cấy chuyển mẫu lên môi trường nuôi cấy chọn lọc EC

5.1. Phương pháp cấy chuyển mẫu lên môi trường nuôi cấy chọn lọc EC

Dùng que cấy vòng chuyển một vòng dịch mẫu từ các ống môi trường tăng sinh chọn lọc LSB (+) sang môi trường chọn lọc EC, ủ ở $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ trong thời gian 24 – 48 giờ.

Theo dõi, quan sát, ghi nhận số ống có sinh hơi (ống Durham nổi) để định tính sự hiện diện của vi khuẩn trong các ống thử nghiệm.

5.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Quan sát, xác định các ống môi trường tăng sinh chọn lọc LSB (+)	Tủ cấy có đèn khử trùng Cồn khử trùng 70 ⁰ Bông thấm nước, đèn cồn Ống cấy mẫu trên môi trường LSB	Môi trường/dụng cụ/người tiến hành thao tác vô trùng Nhận biết chính xác môi trường LSB (+) đục, ống Durham nổi (có sinh hơi)
2	Cấy chuyển lên môi trường EC	Môi trường EC Tủ cấy có đèn khử trùng Đèn cồn, bông thấm nước Que cấy vòng Cồn khử trùng 70 ⁰ Ống cấy mẫu trên môi trường LSB (+)	Môi trường/dụng cụ/người tiến hành thao tác vô trùng Môi trường EC có ống Durham chìm Thao tác cấy chuyển đúng theo yêu cầu Khử trùng miệng ống nghiệm/nút bông trước khi mở/đóng
3	Làm mẫu trắng	Môi trường EC Tủ cấy có đèn khử trùng Đèn cồn, bông thấm nước Cồn khử trùng 70 ⁰	Môi trường/dụng cụ/người tiến hành thao tác vô trùng Môi trường EC có ống Durham chìm Làm song song với mẫu Tuân thủ yêu cầu của quy trình cấy mẫu trắng
4	Bao gói đầu ống nghiệm	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn Ống nghiệm, bao gói	Bao gói riêng biệt từng ống Chỉ bao gói trên đầu ống nghiệm

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
5	Ghi nhãn	Ống nghiệm, bút xạ	Ghi nhãn đầy đủ thông tin
6	Cài đặt thông số kỹ thuật nuôi ủ (nhiệt độ, thời gian)	Tủ ẩm Mẫu trắng	Đúng thông số kỹ thuật yêu cầu ($44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, 24 - 48 giờ)
7	Xếp đặt các ống cấy vào tủ ẩm	Tủ ẩm Các ống cấy mẫu, Mẫu trắng	Các ống nghiệm tách rời nhau, cách xa thành và nóc tủ ẩm
8	Theo dõi thời gian và nhiệt độ trong quá trình nuôi ủ	Tủ ẩm Các ống cấy mẫu Mẫu trắng	Mẫu ủ phải đạt nhiệt độ ủ trong vòng 2 giờ Định kỳ 24 giờ kiểm tra nhiệt độ, độ ẩm, độ thông hơi của tủ ẩm.
9	Quan sát kết quả thử nghiệm	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn Ống môi trường EC có cấy mẫu thử nghiệm Mẫu trắng	Ống mẫu trắng (-) (môi trường trong suốt, ống Durham chìm) Các ống môi trường EC có cấy mẫu thử nghiệm (+) (môi trường bị đục, ống Durham nổi)

5.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Khử trùng tay trước và sau khi thao tác.
- Chú ý an toàn lao động khi thao tác với đèn cực tím, cồn 70° , đèn cồn.
- Thao tác cấy chuyển mẫu phải nhẹ nhàng, cẩn thận theo đúng trình tự.

5.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Môi trường EC không đảm bảo yêu cầu cho phân tích	Ống môi trường EC có ống Durham nổi/ môi trường bị đục	Kiểm tra độ vô trùng của môi trường E trước khi thao tác Chọn ống có ống Durham chìm/ môi trường trong suốt)

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
2	Nhiễm vi sinh vật lần 2 vào mẫu/vi sinh vật phát triển thêm trong mẫu	Khử trùng không đầy đủ, đúng theo yêu cầu Điều kiện vô trùng của môi trường thao tác không đảm bảo	Tuân thủ quy trình vô trùng theo đúng theo hướng dẫn
3	Điều kiện vô trùng môi trường thao tác không đảm bảo	Khử trùng không đầy đủ, đúng theo yêu cầu	Tuân thủ đúng theo hướng dẫn khử trùng môi trường
4	Ống cấy mẫu trắng có hiện tượng (+) (ống Durham nổi/ môi trường bị đục)	Do môi trường/dụng cụ/ người thao tác không đảm bảo vô trùng Cấy nhầm mẫu thử	Tuân thủ khử trùng đúng theo hướng dẫn Cấy dung dịch pha loãng vô trùng
5	Ống cấy mẫu thử nghiệm (-)	Do mẫu thử nghiệm Do điều kiện thử nghiệm	Làm lại Tuân thủ nghiêm ngặt quá trình thao tác
6	Các ống nghiệm bị ngã đổ	Các ống nghiệm bị xếp dòn, chồng lên nhau Các ống nghiệm xếp đặt sát thành và nút tủ ấm	Sắp xếp lại vị trí đặt để các ống theo thứ tự, riêng biệt Các ống nghiệm đặt cách xa thành và nút tủ ấm
7	Các ống nghiệm cấy mẫu thử không phát triển theo dự định	Nhiệt độ tủ ấm và thời gian không đảm bảo theo yêu cầu	Kiểm tra tủ ấm, cài đặt lại thông số kỹ thuật Theo dõi hoạt động tủ ấm thường xuyên

6. Thử nghiệm khả năng định sinh hóa

6.1. Phương pháp thử nghiệm khả năng định sinh hóa

Nếu ống môi trường EC cấy mẫu thu được cho thấy có hiện tượng dương tính (sinh khí) thì cần cấy chuyển sang môi trường thạch đĩa EMB, ủ ở $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ trong 24 giờ.

Chọn các khuẩn lạc đặc trưng trên môi trường EMB cấy vào ống môi trường Trypton, MR – VP, SC Citrat, ủ ở $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ trong 24 giờ. Thực hiện thử nghiệm sinh hóa IMViC (Indol, Methyl Red, Voges Proskauer, Citrat). Ghi nhận số lượng các ống (+) cho mỗi độ pha loãng.

6.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Quan sát, xác định các ống môi trường EC (+)	Tủ cấy có đèn khử trùng Cồn khử trùng 70 ⁰ , bông thấm nước, đèn cồn Ống cấy mẫu trên môi trường EC	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Môi trường EC (+) đục, ống Durham nổi (có sinh hơi)
2	Cấy chuyển lên môi trường thạch đĩa EMB	Môi trường EMB Tủ cấy có đèn khử trùng Đèn cồn, bông thấm nước Que cấy vòng Cồn khử trùng 70 ⁰ Ống cấy mẫu trên môi trường EC (+) Tủ ấm	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Môi trường EMB đảm bảo vô trùng Nuôi ủ trong điều kiện vô trùng Nhiệt độ và thời gian ủ theo quy định (37 ± 1 ⁰ C, 24 giờ).
3	Quan sát, chọn khuẩn lạc đặc trưng trên các đĩa EMB (+)	Tủ cấy có đèn khử trùng Cồn khử trùng 70 ⁰ Bông thấm nước, đèn cồn Đĩa cấy mẫu trên môi trường EMB	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Khuẩn lạc đặc trưng trên môi trường EMB (có đường kính lớn hơn 1mm, tròn, dẹt hình đĩa, có ánh kim xanh)
4	Cấy chuyển khuẩn lạc đặc trưng trên môi trường EMB vào môi trường Trypton, MR – VP, SC Citrat	Môi trường Trypton, MR – VP, SC Citrat Tủ cấy có đèn khử trùng Đèn cồn, bông thấm nước Que cấy vòng, cồn khử trùng 70 ⁰ Đĩa cấy mẫu trên môi trường EMB (+) Tủ ấm	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Môi trường Trypton, MR – VP, SC Citrat đảm bảo vô trùng Thực hiện thao tác cấy chuyển theo yêu cầu Nuôi ủ trong điều kiện vô trùng Nhiệt độ và thời gian ủ theo quy định

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
5	Làm các mẫu đối chứng	Môi trường Trypton, MR – VP, SC Citrat Tủ cấy có đèn khử trùng Tủ ẩm Đèn cồn, bông thấm nước Cồn khử trùng 70 ⁰	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Môi trường Trypton, MR – VP, SC Citrat Làm song song, thực hiện đầy đủ điều kiện như đối với mẫu thử
6	Các thử nghiệm sinh hóa IMViC		
	Thử nghiệm Indol	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn Ống nghiệm môi trường Trypton có cấy mẫu thử nghiệm đã nuôi ủ Thuốc thử Indol	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Hút chính xác 0,5ml thuốc thử Indol Lắc đều ống thử Quan sát sau 1 phút Ống thử nghiệm Indol (-): đầu ống có màu vàng Ống thử nghiệm Indol (+): đầu ống có màu đỏ
	Thử nghiệm Methyl Red (MR)	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn Ống nghiệm môi trường MR – VP Broth có cấy mẫu thử nghiệm đã nuôi ủ Thuốc thử Methyl Red	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Nhỏ vài giọt thuốc thử Methyl Red Lắc đều ống thử Quan sát sau 1 phút Ống thử nghiệm Methyl Red (-): màu vàng Ống thử nghiệm Methyl Red (+): màu đỏ
	Thử nghiệm Voges – Proskauer (VP)	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn Ống nghiệm môi trường	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
		MR – VP Broth có cấy mẫu thử nghiệm đã nuôi ủ Thuốc thử α – naphthol.	Hút chính xác 0,5ml α – naphthol. Lắc đều ống thử Quan sát sau 20 phút Ống thử nghiệm Methyl Red (-): không đổi màu môi trường Ống môi trường thử nghiệm Methyl Red (+): màu đỏ
	Thử nghiệm Citrat (iC)	Tủ cấy có đèn khử trùng, đèn cồn Ống nghiệm môi trường SCA có cấy mẫu thử nghiệm đã nuôi ủ	Môi trường/dụng cụ/ người tiến hành thao tác vô trùng Quan sát sau nuôi ủ Ống thử nghiệm iC (-): không có khuẩn lạc, không đổi màu môi trường, giữ nguyên màu xanh lục Ống thử nghiệm iC (+): xuất hiện khuẩn lạc và môi trường chuyển sang màu xanh dương

6.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Kiểm tra tình trạng thiết bị trước khi sử dụng
- Khử trùng tay/tủ ầm trước và sau khi thao tác.
- Chú ý an toàn lao động khi thao tác với đèn cực tím, cồn 70⁰, đèn cồn.
- Thao tác phải cẩn thận, chính xác theo đúng trình tự thực hiện phản ứng thử nghiệm sinh hóa.

6.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Môi trường thử nghiệm không đảm bảo yêu cầu phản ứng	Ống môi trường bị nhiễm khuẩn	Kiểm tra môi trường trước khi thao tác

STT	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
2	Thuốc thử không đảm bảo yêu cầu cho phản ứng thử nghiệm	Do điều kiện bảo quản không đảm bảo (nhiệt độ, độ tối, thời gian)	Kiểm tra hoạt tính thuốc thử trước khi sử dụng
3	Điều kiện vô trùng của môi trường thao tác không đảm bảo	Khử trùng không đầy đủ, đúng theo yêu cầu	Tuân thủ đúng theo hướng dẫn
4	Ống cấy mẫu đối chứng có hiện tượng (+)	Do môi trường/dụng cụ/người thao tác không đảm bảo vô trùng Cấy nhầm mẫu thử	Tuân thủ khử trùng đúng theo hướng dẫn Cấy dung dịch vô trùng
5	Ống cấy mẫu thử nghiệm (-)	Quan sát, chọn các ống cấy chuyển không phù hợp, không có các đặc điểm theo yêu cầu	Làm lại, chọn các ống cấy phù hợp, đúng theo yêu cầu

7. Quan sát, đọc, tính kết quả

7.1. Phương pháp quan sát, đọc, tính kết quả

Quan sát các ống nghiệm có hiện tượng mờ đục, hoặc sinh khí trong môi trường tăng sinh chọn lọc LSB, khi được cấy chuyển có sinh khí trong môi trường chọn lọc EC.

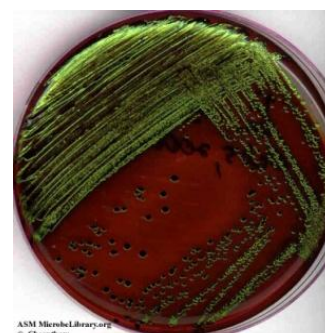
Chọn các khuẩn lạc điển hình trên môi trường thạch EMB, thực hiện thử nghiệm phản ứng IMViC (Indol, Methyl Red, Voges Proskauer, Citrat). Đếm số ống EC (+) và IMViC (+ + - -), tra bảng tra MPN để xác định số lượng *E.coli*.



Môi trường LSB (+)



Môi trường EC (+)



Khuẩn lạc (+) trên môi trường EMB



Môi trường nước Trypton



Thử nghiệm Indol (-)



Thử nghiệm Indol (+)



Môi trường MR – VP Broth



Thử nghiệm MR (-)



Thử nghiệm MR (+)



Thử nghiệm VP (-)



Thử nghiệm VP (+)



Đối chứng trắng Citrat



Thử nghiệm Citrat (-)



Thử nghiệm Citrat (+)

Hình 15.3. Quan sát, tính kết quả định lượng E.coli

7.2. Trình tự thao tác

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
1	Kiểm tra mẫu trắng, mẫu đối chứng	Các mẫu thử cấy trên môi trường LSB, EC, EMB, thử nghiệm IMViC	Mẫu trắng, mẫu đối chứng đảm bảo yêu cầu thử nghiệm
2	Quan sát các ống cấy mẫu thử	Các mẫu thử cấy trên các môi trường thử nghiệm	Nếu không thể quan sát ngay sau khi thời gian ủ chấm dứt, có thể giữ ống ở 4 ⁰ C không quá 24h. Nhận dạng chính xác các hiện tượng (+) đặc trưng trên các môi trường
3	Đếm số lượng ống (+) trên từng nồng độ mẫu pha loãng	Các ống cấy mẫu thử trên môi trường LSB, EC, thử nghiệm IMViC	Đếm chính xác, số lượng ống (+) trên từng nồng độ mẫu pha loãng Đếm chính xác, số lượng ống IMViC (+ + - -)
4	Tính kết quả	Công thức tính	Đúng công thức Đủ các thông số tính kết quả Tính chính xác

7.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Khử trùng tay trước và sau khi thao tác.
- Không chế thời gian thao tác.
- Đảm bảo an toàn sinh học cho người thao tác.
- Thao tác phải nhẹ nhàng, cẩn thận.

7.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Mẫu trắng (+)	Quá trình thao tác không đảm bảo vô trùng làm mẫu trắng bị nhiễm khuẩn	Làm lại, chú ý kỹ điều kiện vô trùng của quá trình thao tác
2	Các ống/đĩa cấy mẫu thử (-)	Độ pha loãng mẫu không phù hợp.	Làm lại, chọn độ pha loãng phù hợp với mẫu thử

STT	Các hư hỏng thường gặp	Nguyên nhân	Cách khắc phục
		Quá trình thao tác không đảm bảo vô trùng	nghiệm. Làm lại, chú ý kỹ điều kiện vô trùng của quá trình thao tác

8. Báo cáo thử nghiệm

8.1. Phương pháp viết báo cáo thử nghiệm

Ghi chính xác, đầy đủ, cập nhật kết quả vào phiếu ghi kết quả và sổ lưu tại phòng kiểm nghiệm.

Viết các nội dung đầy đủ theo yêu cầu trong mẫu báo cáo thử nghiệm.

8.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Ghi kết quả vào phiếu và sổ lưu	Phiếu ghi kết quả Sổ lưu	Chính xác Cập nhật, đầy đủ
2	Báo cáo thử nghiệm	Mẫu báo cáo thử nghiệm	Đảm bảo độ chênh lệch kết quả thử nghiệm trong mức cho phép Ghi đầy đủ các nội dung theo yêu cầu

9. Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị

9.1. Lý thuyết liên quan

Tất cả các dụng cụ, thiết bị đã sử dụng phải được vệ sinh phù hợp (thải bỏ, khử nhiễm, khử trùng, rửa), sạch sẽ và sắp xếp ngăn nắp, đúng nơi quy định.

9.2. Trình tự thao tác

STT	Tên các thao tác	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật
1	Thải bỏ chất thải trong các dụng cụ	Tất cả các dụng cụ đã sử dụng	Không còn bám bẩn trên dụng cụ Được loại bỏ đúng nơi quy định theo yêu cầu
2	Khử nhiễm, khử trùng dụng cụ	Tất cả các dụng cụ đã sử dụng Túi chất dẻo đựng dụng cụ	Đúng đối tượng theo quy định

<i>STT</i>	<i>Tên các thao tác</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>
		chuyên dùng cho hấp áp lực Nồi hấp áp lực, tủ sấy Dung dịch khử nhiễm, khử trùng	Đúng thời gian quy định Sử dụng đúng dung dịch khử nhiễm, khử trùng Dung dịch khử nhiễm, khử trùng được chuẩn bị phù hợp và đúng nồng độ
3	Rửa, vệ sinh dụng cụ, thiết bị	Tất cả dụng cụ, thiết bị đã sử dụng	Vệ sinh phù hợp, sạch sẽ
4	Sắp xếp dụng cụ, thiết bị	Tất cả dụng cụ, thiết bị đã sử dụng	Sắp xếp ngăn nắp, đúng nơi quy định.

9.3. Các chú ý về an toàn lao động

- Đảm bảo an toàn sinh học cho người thao tác.
- Thao tác phải nhẹ nhàng, cẩn thận.

9.4. Các hư hỏng thường gặp nguyên nhân và cách khắc phục

<i>STT</i>	<i>Các hư hỏng thường gặp</i>	<i>Nguyên nhân</i>	<i>Cách khắc phục</i>
1	Dụng cụ còn bám bẩn dung dịch, môi trường, thuốc thử	Quá trình loại bỏ không cẩn thận, sạch sẽ	Làm lại, chú ý kỹ điều kiện loại bỏ môi trường, dung dịch, thuốc thử Tránh tiếp xúc trực tiếp với người thao tác
2	Bể vỡ dụng cụ	Thao tác không cẩn thận, nhẹ nhàng	Loại bỏ dụng cụ bể vỡ Chú ý thao tác nhẹ nhàng, cẩn thận

10. Thực hành xác định E.Coli

<i>STT</i>	<i>Tên các bước công việc</i>	<i>Dụng cụ, thiết bị, vật tư</i>	<i>Yêu cầu kỹ thuật</i>	<i>Các chú ý về an toàn lao động</i>
1	Chuẩn bị dụng cụ, thiết bị	Các dụng cụ thí nghiệm Các thiết bị Các hóa chất khử trùng	Các dụng cụ đảm bảo vô trùng Thiết bị trong tình trạng tốt, sẵn sàng sử dụng	Vận hành thiết bị (tủ sấy, nồi hấp áp lực, cân phân tích, thiết bị lọc màng...) an toàn Chú ý an toàn điện

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
				khi vận hành thiết bị Chú ý an toàn khi tiếp xúc với hóa chất khử trùng
2	Chuẩn bị môi trường, thuốc thử	Các hóa chất, nguyên vật liệu pha môi trường, thuốc thử Nồi hấp áp lực, bếp điện, cân phân tích	Môi trường, thuốc thử vô trùng, hoạt tính tốt	Vận hành thiết bị (nồi hấp áp lực, bếp điện, cân phân tích thiết bị lọc màng...) an toàn Chú ý an toàn khi tiếp xúc với hóa chất, không để dính vào tay
3	Chuẩn bị mẫu thử	Mẫu thử nghiệm Dung dịch pha loãng vô trùng Các dụng thí nghiệm	Độ pha loãng phù hợp với mẫu Thao tác chuẩn xác, đúng trình tự Mẫu pha loãng đầy đủ nồng độ, xếp đúng thứ tự Đảm bảo vô trùng	Chú ý an toàn khi tiếp xúc với mẫu thử
4	Cấy mẫu lên môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc LSB	Mẫu thử nghiệm pha loãng Môi trường nuôi cấy tăng sinh chọn lọc LSB vô trùng Tủ cấy, pipet, đĩa petri	Cấy đúng nồng độ pha loãng Cấy đúng số lần lặp lại trên các nồng độ mẫu pha loãng Làm mẫu trắng đúng kỹ thuật yêu cầu Thao tác chuẩn xác, đúng trình tự, đảm bảo vô trùng	Chú ý an toàn khi tiếp xúc với mẫu thử
5	Cấy chuyển mẫu lên môi trường	Mẫu nuôi cấy tăng sinh chọn	Thực hiện đối với các ống tăng sinh	Chú ý an toàn khi tiếp xúc với mẫu

STT	Tên các bước công việc	Dụng cụ, thiết bị, vật tư	Yêu cầu kỹ thuật	Các chú ý về an toàn lao động
	nuôi cấy chọn lọc EC	lọc Môi trường nuôi cấy chọn lọc vô trùng Tủ cấy, pipet,	chọn lọc (+) Thao tác chuẩn xác, đúng trình tự Làm mẫu trắng theo yêu cầu Đảm bảo vô trùng	thử
6	Thử nghiệm khẳng định sinh hóa	Mẫu (+) trên môi trường LSB, EC Môi trường thử nghiệm khẳng định, thuốc thử vô trùng Tủ cấy, pipet, đĩa petri	Cấy đúng theo yêu cầu của phương pháp Làm mẫu trắng theo yêu cầu Thao tác chuẩn xác, đúng trình tự Đảm bảo vô trùng	Chú ý an toàn khi tiếp xúc với mẫu thử Không để hóa chất dính vào tay
7	Quan sát, đọc, tính kết quả	Các ống cấy mẫu Mẫu trắng	Chính xác Đảm bảo vô trùng	Đảm bảo an toàn sinh học cho người thao tác
8	Báo cáo thử nghiệm	Phiếu ghi kết quả, sổ lưu Mẫu báo cáo thử nghiệm	Ghi đầy đủ, cập nhật, chính xác Báo cáo đầy đủ theo yêu cầu	
9	Vệ sinh, sắp xếp dụng cụ, thiết bị	Tất cả dụng cụ, thiết bị đã sử dụng	Vệ sinh phù hợp, sạch sẽ và sắp xếp ngăn nắp	Bể vỡ dụng cụ Vệ sinh, lau chùi, sắp xếp dụng cụ, thiết bị theo hướng dẫn

HƯỚNG DẪN GIẢNG DẠY MÔ ĐUN

I. Vị trí, tính chất, ý nghĩa và vai trò của mô đun:

- Vị trí: Kiểm nghiệm nước dùng trong thực phẩm là mô đun chuyên môn của nghề Kiểm nghiệm lương thực thực phẩm, được bố trí sau các môn học/ mô đun cơ sở, môn học Kỹ thuật phòng kiểm nghiệm.
- Tính chất: Đây là mô đun tích hợp giữa lý thuyết và thực hành. Do đó, cần được tổ chức giảng dạy tại phòng học có đầy đủ điều kiện, phương tiện giảng dạy và dụng cụ, thiết bị, máy móc cần thiết cho việc dạy và học.
- Ý nghĩa và vai trò của mô đun: Mô đun trang bị cho người học các kiến thức và kỹ năng về lấy mẫu, xác định các chỉ tiêu chất lượng đặc trưng của nước dùng trong thực phẩm.

II. Mục tiêu của mô đun:

- Về kiến thức:
 - + Mô tả được cách lấy mẫu của nước dùng trong thực phẩm;
 - + Liệt kê được các chỉ tiêu chất lượng của nước dùng trong thực phẩm;
 - + Nêu được khái niệm, nguyên tắc xác định chỉ tiêu chất lượng của nước dùng trong thực phẩm;
 - + Trình bày được các phương pháp xác định chỉ tiêu chất lượng của nước dùng trong thực phẩm.
- Về kỹ năng:
 - + Lựa chọn đúng và sử dụng thành thạo dụng cụ, thiết bị, hóa chất để xác định các chỉ tiêu chất lượng của nước dùng trong thực phẩm;
 - + Thực hiện thành thạo các bước xác định các chỉ tiêu chất lượng của nước dùng trong thực phẩm theo đúng trình tự, chính xác, đảm bảo an toàn;
 - + Phân tích được các nguyên nhân gây sai số và cách khắc phục trong quá trình xác định các chỉ tiêu.
- Về năng lực tự chủ và trách nhiệm:
 - + Tuân thủ theo các bước thực hiện công việc và nội quy phòng thí nghiệm;
 - + Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ, trung thực trong phân tích các chỉ tiêu chất lượng.
 - + Nghiêm túc, sẵn sàng hợp tác và chia sẻ với các thành viên trong nhóm/tập thể lớp;
 - + Có ý thức tiết kiệm hoá chất, bảo vệ tài sản trong phòng thí nghiệm.

III. Tài liệu tham khảo

- [1]. Trần Thị Thanh Mẫn (chủ biên), Hồ Thị Tuyết Mai, Hoàng Minh Thục Quyên, Trần Thị Minh Hương (2010), *Giáo trình phân tích thực phẩm* (lưu hành nội bộ), trường Cao đẳng Lương thực Thực phẩm.
- [2]. Trần Tú Hiếu (2005), *Giáo trình Hóa học phân tích*, Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội.

- [3]. Trần Linh Thước (2009), *Các phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm*, Nhà xuất bản Giáo dục, Hà Nội.
- [4]. Các tiêu chuẩn Việt Nam về phân tích thực phẩm.